

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平4-126085

⑤ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)4月27日

C 12 N 15/49
C 07 K 13/00

ZNA

7731-4H
8717-4B

C 12 N 15/00

A※

審査請求 未請求 請求項の数 13 (全34頁)

⑭ 発明の名称 ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNA

⑯ 特 願 平2-206218

⑰ 出 願 平2(1990)8月3日

優先権主張 ⑱ 平2(1990)5月11日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 平2-122163

㉑ 発 明 者 長 谷 川 明 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

㉒ 発 明 者 槇 昇 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

㉓ 発 明 者 見 上 彪 千葉県鎌ヶ谷市くぬぎ山5-8-7-506

㉔ 発 明 者 速 水 正 憲 東京都中野区野方2-37-12

㉕ 出 願 人 東 燃 株 式 会 社 東京都千代田区一ツ橋1丁目1番1号

㉖ 代 理 人 弁 理 士 川 口 義 雄 外4名

最終頁に続く

明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

1. 発 明 の 名 称

ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNA

2. 特 許 請 求 の 範 囲

(1) ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNAであって、下記の図に示される読み取り枠に従って、gag, pol, vif及びenv領域に対応する下記の図に示されたアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。

(以下空白)

明細書の淨書(内容に変更なし)

27 54
TGG GAA GAT TAT TGG GAT CCT GAA GAA ATA GAG AAA ATG CTG ATG GAC TGA GGG
U3
81 108
CGC ACA TAA ACA AGT GAC AGA TGA AAA ACA GCT GAA TAT GAG TCA GAG TTA AAT
135 162
GCT AGC AGC TGC TTA ACC GCA AAA CCA CAT CCT ATG TAA AGC TTG CCG ATG ACG
189 216
TGT ATC TTG CTC CAT TGT AAG AGT ATA TAA CCA GTG TTT TTT AAA GCT TCG AGG
243 270
AGT CTC TCT GTT GAG GGC TTT CGA GTT CTC CCT TGA GGC TCC CAC AGA TAC AAT
R
297 324
AAA AAA TTG AGT TTT GAG ATT GAA CCC TGT CGT GTA TCT GTG TAA TTT CTC TTA
U5
351 378
CCT GCG AAT CCC TGG AGT CCG GGC CAG GGA CCT CGC AGT TGG CCG CCG AAC AGG
PBS
405 432
GAC TTG AAA AAG AGT GAT TAG GGA AGT GAA GCT AGA GCA ATA GAA AGC TGT CAA
459 486
GCA GAA CTC CTG CAG ACC TTG TGT GGG GAG CAG TTG CAG ACG CTG CTG GCA GTG
513 540
AGT ATC TCT AGT GGA GCA GAC CTG AGC TCT GGA TTA AGT CAC TAT TCG CAG GCC

明細書の淨書(内容に変更なし)

567 594
TAG ATA AAG ATT ATC TGG TGA CTC TTC GCG GAT CGT CAA GCC AGG AGA TTC GTC
621 648
GGG GGA CAG CCA ACA AGG TAG GAG AGA TTC TAC AGC AAC ATG GGG AAT GGA CAG
Met Gly Asn Gly Gln
gag
675 702
GGG CGA GAC TGG AAA ATG GCC ATT AAG AGA TGT AGT AAT GTT GCT GTA GGA GTA
Gly Arg Asp Trp Lys Met Ala Ile Lys Arg Cys Ser Asn Val Ala Val Gly Val
729 756
GGG AGT AAG AGT AAA AGA TTC GGA GAA GGA AAC TTT AGA TGG GCC ATA AGG ATG
Gly Ser Lys Ser Lys Arg Phe Gly Glu Gly Asn Phe Arg Trp Ala Ile Arg Met
783 810
GCT AAT GTA ACT ACA GGA CGA GAA CCA GGT GAT ATA CCA GAG ACT TTA GAA CAG
Ala Asn Val Thr Thr Gly Arg Glu Pro Gly Asp Ile Pro Glu Thr Leu Glu Gln
837 864
TTA AGA TCA ATT ATT TGT GAT TTA CAA GAC AGA AGA GAA CAC TAT GGA TCT AGT
Leu Arg Ser Ile Ile Cys Asp Leu Gln Asp Arg Arg Glu His Tyr Gly Ser Ser
891 918
AAG GAA ATT GAT ATG GCA ATT ACC ACT TTA AAA GTT TTT GCA GTG GCA GGA ATT
Lys Glu Ile Asp Met Ala Ile Thr Thr Leu Lys Val Phe Ala Val Ala Gly Ile
945 972
CTA AAT ATG ACT GTA TCT ACT GCC ACA GCA GCT GAA AAT ATG TAT GCT CAG ATG
Leu Asn Met Thr Val Ser Thr Ala Thr Ala Ala Glu Asn Met Tyr Ala Gln Met
999 1026
GGA TTA GAC ACC AGA CCA TCT GTA AAA GAA AGT GGG GGA AAA GAA GAA GGA CCT
Gly Leu Asp Thr Arg Pro Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Lys Glu Glu Gly Pro

特開平4-126085(3)

明細書の序言(内容に変更なし)

1053 1080
CCA CAG GCT TAT CCT ATT CAA ACA GTA AAT GGA GCA CCA CAG TAT GTA GCC CTT
Pro Gln Ala Tyr Pro Ile Gln Thr Val Asn Gly Ala Pro Gln Tyr Val Ala Leu

1107 1134
GAT CCA AAA ATG GTG TCC ATT TTT ATG GAG AAG GCA AGA GAG GGG CTA GGA GGT
Asp Pro Lys Met Val Ser Ile Phe Met Glu Lys Ala Arg Glu Gly Leu Gly Gly

1161 1188
GAG GAG GTC CAA CTG TGG TTC ACA GCC TTT TCA GCT AAT TTA ACA TCA ACT GAT
Glu Glu Val Gln Leu Trp Phe Thr Ala Phe Ser Ala Asn Leu Thr Ser Thr Asp

1215 1242
ATG GCT ACA TTA ATT ATG TCC GCA CCT GGC TGT GCA GCA GAT AAA GAA ATC CTA
Met Ala Thr Leu Ile Met Ser Ala Pro Gly Cys Ala Ala Asp Lys Glu Ile Leu

1269 1296
GAT GAA ACA CTG AAA CAG ATG ACA GCT GAG TAT GAT CGT ACC CAT CCT CCT GAT
Asp Glu Thr Leu Lys Gln Met Thr Ala Glu Tyr Asp Arg Thr His Pro Pro Asp

1323 1350
GGG CCT AGA CCG CTG CCC TAT TTC ACT GCC GCA GAG ATT ATG GGG ATA GGA TTA
Gly Pro Arg Pro Leu Pro Tyr Phe Thr Ala Ala Glu Ile Met Gly Ile Gly Leu

1377 1404
ACT CAA GAA CAA CAA GCA GAG CCC AGG TTT GCA CCA GCC AGA ATG CAG TGT AGA
Thr Gln Glu Gln Gln Ala Glu Pro Arg Phe Ala Pro Ala Arg Met Gln Cys Arg

1431 1458
GCA TGG TAC CTT GAA GCA TTA GGA AAG TTG GCG GCC ATA AAA GCC AAA TCT CCC
Ala Trp Tyr Leu Glu Ala Leu Gly Lys Leu Ala Ala Ile Lys Ala Lys Ser Pro

明細書の序言(内容に変更なし)

1485 1512
CGA GCA GTA CAA TTG AAG CAG GGA GCT AAA GAG GAC TAT TCC TCA TTT ATA GAT
Arg Ala Val Gln Leu Lys Gln Gly Ala Lys Glu Asp Tyr Ser Ser Phe Ile Asp

1539 1566
AGA CTA TTT GCT CAA ATA GAT CAA GAG CAG AAC ACA GCT GAA GTA AAG CTG TAT
Arg Leu Phe Ala Gln Ile Asp Gln Glu Gln Asn Thr Ala Glu Val Lys Leu Tyr

1593 1620
TTA AAA CAA TCT TTA AGT ATA GCC AAT GCT AAT CCA GAT TGT AAA AGA GCA ATG
Leu Lys Gln Ser Leu Ser Ile Ala Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Arg Ala Met

1647 1674
AGT CAT CTT AAA CCA GAA AGT ACT TTA GAG GAA AAA CTG AGG GCC TGC CAA GAA
Ser His Leu Lys Pro Glu Ser Thr Leu Glu Glu Lys Leu Arg Ala Cys Gln Glu

1701 1728
GTA GGA TCA CCA GGA TAT AAA ATG CAA TTG CTG GCG GAA GCT CTC ACA AGG GTT
Val Gly Ser Pro Gly Tyr Lys Met Gln Leu Leu Ala Glu Ala Leu Thr Arg Val

1755 1782
CAA ACA GTT CAA ACA AAA GGA CCA AGG CTA GTG TGT TTC AAT TGT AAA AAA CCA
Gln Thr Val Gln Thr Lys Gly Pro Arg Leu Val Cys Phe Asn Cys Lys Lys Pro

1809 1836
GGC CAC CTG GCT AGA CAA TGT AAA GAA GCG AAG AGA TGT AAT AAC TGT GGA AAA
Gly His Leu Ala Arg Gln Cys Lys Glu Ala Lys Arg Cys Asn Asn Cys Gly Lys

1863 1890
CCT GGT CAC TTA GCT GCT AAT TGC TGG CAA GGA GGT AGG AAA ACC TCG GGA AAC

特開平4-126085(4)

明細書の序言(内容に変更なし)

Pro Gly His Leu Ala Ala Asn Cys Trp Gln Gly Gly Arg Lys Thr Ser Gly Asn
Glu Asn Leu Gly Lys Arg
pol

1917 1944
GAG AAG GTG GGG CGA GCT GCA GCC CCA GTA AAC CAA GTG CAG CAA ATA GTA CCA
Glu Lys Val Gly Arg Ala Ala Ala Pro Val Asn Gln Val Gln Gln Ile Val Pro
Glu Gly Gly Ala Ser Cys Ser Pro Ser Lys Pro Ser Ala Ala Asn Ser Thr Ile

1971 1998
TCT GCA CCT CCA ATG GAG GAG AAA CTA TTA GAT TTA TAA ACT ATA ATA CAA TAG
Ser Ala Pro Pro Met Glu Glu Lys Leu Leu Asp Leu
Cys Thr Ser Asn Gly Gly Glu Thr Ile Arg Phe Ile Asn Tyr Asn Thr Ile Gly

2025 2052
GTA CTA CCA CAA CTT TGG AAA GAA GAC CTG AAA TAC AAA TTT TTG TAA ATG GAC
Thr Thr Thr Thr Leu Glu Arg Arg Pro Glu Ile Gln Ile Phe Val Asn Gly His

2079 2106
ACC CTA TAA AAT TTT TAT TAG ATA CAG GAG CAG ATA TAA CAA TTT TAA ATA GAA
Pro Ile Lys Phe Leu Leu Asp Thr Gly Ala Asp Ile Thr Ile Leu Asn Arg Lys

2133 2160
AAG ATT TTC AAA TAG GAA ATT CTA TAG AAA ATG GGA AAC AGA ATA TGA TTG GAG
Asp Phe Gln Ile Gly Asn Ser Ile Glu Asn Gly Lys Gln Asn Met Ile Gly Val

2187 2214
TAG GAG GAG GAA AAA GAG GAA CTA ATT ATA TCA ATG TAC ATC TAG AAA TTA GAG
Gly Gly Gly Lys Arg Gly Thr Asn Tyr Ile Asn Val His Leu Glu Ile Arg Asp

明細書の序言(内容に変更なし)

2241 2268
ATG AAA ATT ATA GGA TGC AAT GTA TAT TTG GAA ATG TGT GTG TTC TAG AAG ATA
Glu Asn Tyr Arg Met Gln Cys Ile Phe Gly Asn Val Cys Val Leu Glu Asp Asn

2295 2322
ATT CCT TAA TCC AAC CAT TAT TAG GAA GAG ATA ACA TGA TTA AGT TTA ATA TAA
Ser Leu Ile Gln Pro Leu Leu Gly Arg Asp Asn Met Ile Lys Phe Asn Ile Arg

2349 2376
GAT TGG TAA TGG CTC AAA TTT CAG AAA AGA TTC CAA TAG TAA AAG TGA GGA TGA
Leu Val Met Ala Gln Ile Ser Glu Lys Ile Pro Ile Val Lys Val Arg Met Lys

2403 2430
AGG ACC CTA CTC AAG GGC CTC AGG TAA AAC AGT GGC CAT TAT CAA ATG AAA AAA
Asp Pro Thr Gln Gly Pro Gln Val Lys Gln Trp Pro Leu Ser Asn Glu Lys Ile

2457 2484
TTG AAG CTT TAA CAG ACA TAG TAG AAA GAT TAG AAT CAG AAG GAA AAG TGA AAA
Glu Ala Leu Thr Asp Ile Val Glu Arg Leu Glu Ser Glu Gly Lys Val Lys Arg

2511 2538
GGG CTG ACC CGA ATA ATC CTT GGA ATA CCC CAG TAT TTG CTA TTA AGA AGA AGA
Ala Asp Pro Asn Asn Pro Trp Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Ser

2565 2592
GTG GTA AAT GGA GGA TGC TCA TAG ATT TTA GGG TCC TAA ATA AAT TAA CAG ACA
Gly Lys Trp Arg Met Leu Ile Asp Phe Arg Val Leu Asn Lys Leu Thr Asp Lys

2619 2646
AAG GAG CAG AAG TCC AGT TAG GAC TTC CTC ATC CTG CTG GAT TAC AAA TGA AAA
Gly Ala Glu Val Gln Leu Gly Leu Pro His Pro Ala Gly Leu Gln Met Lys Lys

2673 2700
AAC AAG TAA CGG TGT TGG ATA TAG GGG ATG CAT ATT TTA CCA TTC CTC TAG ATC

特開平4-126085 (5)

明細書の序言(内容に変更なし)

Gln Val Thr Val Leu Asp Ile Gly Asp Ala Tyr Phe Thr Ile Pro Leu Asp Pro
2727 2754
CAG ATT ATG CTC CTT ATA CTG CAT TTA CAT TAC CTA GGA AAA ATA ATG CAG GGC
Asp Tyr Ala Pro Tyr Thr Ala Phe Thr Leu Pro Arg Lys Asn Asn Ala Gly Pro
2781 2808
CAG GGA GGA GAT ATG TAT GGT GCA GTT TAC CAC AGG GGT GGG TTT TAA GTC CAT
Gly Arg Arg Tyr Val Trp Cys Ser Leu Pro Gln Gly Trp Val Leu Ser Pro Leu
2835 2862
TAA TAT ATC AGA GTA CCT TAA ACA ATA TAT TAC AGC CAT TTA TCA AAC AAA ATT
Ile Tyr Gln Ser Thr Leu Asn Asn Ile Leu Gln Pro Phe Ile Lys Gln Asn Ser
2889 2916
CTG AGT TAG ATA TTT ACC AAT ATA TGG ATG ATA TAT ATA TAG GAT CAA ATT TAA
Glu Leu Asp Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Ile Tyr Ile Gly Ser Asn Leu Asn
2943 2970
ATA AAA AAG AAC ATA AAC AAA AAG TAG AAG AAT TAA GAA AAT TGT TAT TAT GGT
Lys Lys Glu His Lys Gln Lys Val Glu Glu Leu Arg Lys Leu Leu Leu Trp Trp
2997 3024
GGG GAT TTG AAA CCC CGG AAG ACA AAT TAC AAG AAG AGC CCC CAT ATA AGT GGA
Gly Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Gln Glu Glu Pro Pro Tyr Lys Trp Met
3051 3078
TGG GCT ATG AAT TAC ATC CAT TAA CAT GGT CAA TAC AGC AAA AAC AAT TAG AAA
Gly Tyr Glu Leu His Pro Leu Thr Trp Ser Ile Gln Gln Lys Gln Leu Glu Ile
3105 3132
TTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA AAT TAG CAG GTA AAA TAA ACT
Pro Glu Arg Pro Thr Leu Asn Glu Leu Gln Lys Leu Ala Gly Lys Ile Asn Trp

明細書の序言(内容に変更なし)

3159 3186
GGG CCA GTC AGA CTA TCC CAG ACT TAA GTA TAA AAG AAC TAA CTA ACA TGA TGA
Ala Ser Gln Thr Ile Pro Asp Leu Ser Ile Lys Glu Leu Thr Asn Met Met Arg
3213 3240
GAG GAG ATC AGA AAT TAG ACT CAA TAA GAG AAT GGA CTG TAG AAG CCA AGA GAG
Gly Asp Gln Lys Leu Asp Ser Ile Arg Glu Trp Thr Val Glu Ala Lys Arg Glu
3267 3294
AAG TAC AAA AAG CTA AGG AGG CTA TTG AGA CGC AAG CAC AGC TAA ATT ATT ATG
Val Gln Lys Ala Lys Glu Ala Ile Glu Thr Gln Ala Gln Leu Asn Tyr Tyr Asp
3321 3348
ATC CCA ATC GAG GAT TAT ATG CAA AAT TGA GTT TAG TGG GAC CAC ATC AAA TAT
Pro Asn Arg Gly Leu Tyr Ala Lys Leu Ser Leu Val Gly Pro His Gln Ile Cys
3375 3402
GTT ATC AAG TGT ATC AAA AGA ACC CAG AAC ACA TTT TAT GGT ATG GTA AGA TAA
Tyr Gln Val Tyr Gln Lys Asn Pro Glu His Ile Leu Trp Tyr Gly Lys Ile Asn
3429 3456
ATA GAC AAA AGA AAA AAG CAG AAA ATA CCT GTG ATA TAG CTC TAA GGG CAT GTT
Arg Gln Lys Lys Lys Ala Glu Asn Thr Cys Asp Ile Ala Leu Arg Ala Cys Tyr
3483 3510
ATA AAA TAA GAG AAG AGT CTA TTA TAA GAA TAG GAA AAG AAC CAG TAT ATG AAA
Lys Ile Arg Glu Glu Ser Ile Ile Arg Ile Gly Lys Glu Pro Val Tyr Glu Ile
3537 3564
TAC CTG CAT CCA GAG AGG CCT GGG AAT CAA ATC TAA TTA GAT CTC CAT ACC TTA
Pro Ala Ser Arg Glu Ala Trp Glu Ser Asn Leu Ile Arg Ser Pro Tyr Leu Lys

特開平4-126085(6)

明細書の序言(内容に変更なし)

3591 3618
AGG CCC CAC CAC CTG AGG TAG AAT TTA TAC ATG CAG CCT TAA GTA TAA AAA GGG
Ala Pro Pro Pro Glu Val Glu Phe Ile His Ala Ala Leu Ser Ile Lys Arg Ala

3645 3672
CTT TAA GCA TGA TAC AAG ATG CCC CTA TAA TAG GAG CAG AAA CAT GGT ATA TAG
Leu Ser Met Ile Gln Asp Ala Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Trp Tyr Ile Asp

3699 3726
ATG GGA GTA GAA AAC AAG GAA AAG CAG CAA GAG CAG CCT ATT GGA CAA ATA CAG
Gly Ser Arg Lys Gln Gly Lys Ala Ala Arg Ala Ala Tyr Trp Thr Asn Thr Gly

3753 3780
GCA AAT GGC AGA TAA TGG AGA TAG AAG GAA GTA ATC AAA AAG CAG AGG TAC AGG
Lys Trp Gln Ile Met Glu Ile Glu Gly Ser Asn Gln Lys Ala Glu Val Gln Ala

3807 3834
CTT TAT TAT TGG CCT TAA AAG CAG GAT CAG AAG AAA TGA ATA TCA TAA CAG ATT
Leu Leu Leu Ala Leu Lys Ala Gly Ser Glu Glu Met Asn Ile Ile Thr Asp Ser

3861 3888
CAC AAT ATA TTT TGA ATA TTC TCA ACC AAC AAC CAG ATT TGA TGG AAG GAC TAT
Gln Tyr Ile Leu Asn Ile Leu Asn Gln Gln Pro Asp Leu Met Glu Gly Leu Trp

3915 3942
GGC AAG AGG TCT TAG AAC AAA TGG AAA AGA AAA TAG CAA TTT TTA TAG ACT GGG
Gln Glu Val Leu Glu Gln Met Glu Lys Lys Ile Ala Ile Phe Ile Asp Trp Val

3969 3996
TTT CTG GGC ATA AAG GTA TAC CAG GAA ATG AAG AAG TAG ATA AAC TTT GCC AAA
Pro Gly His Lys Gly Ile Pro Gly Asn Glu Glu Val Asp Lys Leu Cys Gln Thr

明細書の序言(内容に変更なし)

4023 4050
CAA TGA TGA TTA TAG AAG GTG AGG GGA TAT TAG AGA AAA GAT CAG AAG ATG CAG
Met Met Ile Ile Glu Gly Glu Gly Ile Leu Glu Lys Arg Ser Glu Asp Ala Gly

4077 4104
GAT ATG ACT TAT TAG CTG CAG CAC AAG AAA CAC ATT TCT TGC CTG GAG AGG TAA
Tyr Asp Leu Leu Ala Ala Ala Gln Glu Thr His Phe Leu Pro Gly Glu Val Arg

4131 4158
GAA TAG TAC CAA CAA AAA CAA GAA TAA TGC TAC CAA AAG GAC ACT GGG GAC TAA
Ile Val Pro Thr Lys Thr Arg Ile Met Leu Pro Lys Gly His Trp Gly Leu Ile

4185 4212
TAA TGG GAA AAA GCT CAA TAG GAA GTA AAG GGG TGG ATG TAT TAG GAG GAG TTA
Met Gly Lys Ser Ser Ile Gly Ser Lys Gly Val Asp Val Leu Gly Gly Val Ile

4239 4266
TAG ATG AAG GAT ATA GAG GAG AAT TAG GAG TGA TTA TGA TTA ATT TAA CAA AAA
Asp Glu Gly Tyr Arg Gly Glu Leu Gly Val Ile Met Ile Asn Leu Thr Lys Lys

4293 4320
AAT CAA TAA CTA TAT TAG AAA AGC AAA AAA TAG CAC AAT TGA TAA TAT TGC CTT
Ser Ile Thr Ile Leu Glu Lys Gln Lys Ile Ala Gln Leu Ile Ile Leu Pro Cys

4347 4374
GTA GAC ACG AAG GCC TAC AAC AAG GAG AAA TAC AAA TGA ATT CAG AAA GAG GAG
Arg His Glu Gly Leu Gln Gln Gly Glu Ile Gln Met Asn Ser Glu Arg Gly Glu

4401 4428
AAA AAG GAT TCG GAT CAG CAG GAG TTT TTT CAT CAT GGG TAG ATA GAA TTG AAG
Lys Gly Phe Gly Ser Ala Gly Val Phe Ser Ser Trp Val Asp Arg Ile Glu Glu

特開平 4-126085 (7)

明細書の序言(内容に変更なし)

4455 4482
AAG CAG AGT TGA ATC ATG AAA AAT TTC ATT CAG ACC CAC AAT ATT TAA GGA CGG
Ala Glu Leu Asn His Glu Lys Phe His Ser Asp Pro Gln Tyr Leu Arg Thr Glu

4509 4536
AGT TCA ATC TAC CTA GAA TAG TAG CAG AAG AAA TAA AAA GAA AAT GTC CCC TGT
Phe Asn Leu Pro Arg Ile Val Ala Glu Glu Ile Lys Arg Lys Cys Pro Leu Cys

4563 4590
GCA GAA TTA GAG GCG AAC AAG TAG GGG GAC AAT TAA AGA TTC GGC CTG GAA TAT
Arg Ile Arg Gly Glu Gln Val Gly Gly Gln Leu Lys Ile Arg Pro Gly Ile Trp

4617 4644
GGC AAA TGG ATT GCA CAC ATT TTA ATG GTA AAA TAA TCA TTG TAG CAG TGC ATG
Gln Met Asp Cys Thr His Phe Asn Gly Lys Ile Ile Ile Val Ala Val His Val

4671 4698
TGG AAT CAG GAT TTT TAT GGG CAC AGA TAA TTC CAC AGG AGA CTG CAG ATT GTA
Glu Ser Gly Phe Leu Trp Ala Gln Ile Ile Pro Gln Glu Thr Ala Asp Cys Thr

4725 4752
CAG TCA AAG CTC TTT TAC AAC TTA TAT GTG CTC ATA ATG TTA CAG AAT TAC AAA
Val Lys Ala Leu Leu Gln Leu Ile Cys Ala His Asn Val Thr Glu Leu Gln Thr

4779 4806
CAG ATA ATG GAC CAA ATT TTA AAA ATC AGA AAA TGG AAG GAT TAT TAA ATT ATA
Asp Asn Gly Pro Asn Phe Lys Asn Gln Lys Met Glu Gly Leu Leu Asn Tyr Met

4833 4860
TGG GAA TAA AAC ATA AAT TGG GTA TAC CAG GTA ACC CAC AAT CAC AAG CAT TGG
Gly Ile Lys His Lys Leu Gly Ile Pro Gly Asn Pro Gln Ser Gln Ala Leu Val

明細書の序言(内容に変更なし)

4887 4914
TGG AAA ATG CTA ATA ACA CAT TGA AAG TTT GGA TTC AGA AAT TTC TAC CAG AGA
Glu Asn Ala Asn Asn Thr Leu Lys Val Trp Ile Gln Lys Phe Leu Pro Glu Thr

4941 4968
CTA CTT CTC TGG ATA ATG CTT TGG CCC TAG CCC TGC ATT GTC TCA ATT TTA AAC
Thr Ser Leu Asp Asn Ala Leu Ala Leu Ala Leu His Cys Leu Asn Phe Lys Gln

4995 5022
AAA GGG GTA GAC TAG GGA GGA TGG CCC CTT ATG AAT TAT ACA TAC AAC AAG AAT
Arg Gly Arg Leu Gly Arg Met Ala Pro Tyr Glu Leu Tyr Ile Gln Gln Glu Ser

5049 5076
CAT TAA GAA TAC AAG ACT ATT TTT CCG CGA TTC CAC AAA AGT TAA TGA TGC AAT
Leu Arg Ile Gln Asp Tyr Phe Ser Ala Ile Pro Gln Lys Leu Met Met Gln Trp

5103 5130
GGT TGT ATT ACA AAG ATC AAA AAG ATA AAA AAT GGA AGG GAC CAA TGA GAG TGG
Leu Tyr Tyr Lys Asp Gln Lys Asp Lys Lys Trp Lys Gly Pro Met Arg Val Glu

5157 5184
AAT ATT GGG GAC AAG GAT CAG TAT TAT TAA AGG ATG AAG AGA AGG GAA TAT TTC
Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Val Leu Leu Lys Asp Glu Glu Lys Gly Ile Phe Leu

5211 5238
TTG TAC CTA GGA GAC ACA TAA GAA GAG TCC CAG AAC CCT GCA CTC TTC CTG AAG
Val Pro Arg Arg His Ile Arg Arg Val Pro Glu Pro Cys Thr Leu Pro Glu Gly

5265 5292
GGG ATG AGT GAC GAA GAT TGG CAG GTA AGT AGA AGA CTC TTT GCA GTT CTC CAA

特開平 4-126085 (8)

明細書の序言(内容に変更なし)

Met Ser Asp Glu Asp Trp Gln Val Ser Arg Arg Leu Phe Ala Val Leu Gln
 Asp Glu
 vif

5319 5346
 GGA GGA GTA TAC AGT GCC ATG TTG TAC ATA TCG AGT CTA CCT GAA ATG GAA CAG
 Gly Gly Val Tyr Ser Ala MET Leu Tyr Ile Ser Ser Leu Pro Glu Met Glu Gln

5373 5400
 GAT AAA TGT AAA AGG AGC TTT AAG AAA AGG CTT TCG GAA AAG GAA ACA GGA TTC
 Asp Lys Cys Lys Arg Ser Phe Lys Lys Arg Leu Ser Glu Lys Glu Thr Gly Phe

5427 5454
 ATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GGA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT
 Ile Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Trp Ser Phe His Thr Arg Asp

5481 5508
 TAT TAT ATA GGA TAT GTA AGA GAG ATG GTG GCC GGA TCT AGC CTA CCA GAT AGT
 Tyr Tyr Ile Gly Tyr Val Arg Glu Met Val Ala Gly Ser Ser Leu Pro Asp Ser

5535 5562
 TTA AGA TTG TAT GTT TAT ATA AGC AAT CCA TTG TGG CAT CAA TCA TAC CGT CCT
 Leu Arg Leu Tyr Val Tyr Ile Ser Asn Pro Leu Trp His Gln Ser Tyr Arg Pro

5589 5616
 GGC CTG ACA AAT TTT AAT ACA GAA TGG CCT TTT GTA AAT ATG TGG ATA AAG ACA
 Gly Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Trp Pro Phe Val Asn Met Trp Ile Lys Thr

5643 5670
 GGA TTT ATG TGG GAT GAT ATT GAA AGC CAG AAT ATT TGC AAA GGA GGA GAG ATT
 Gly Phe Met Trp Asp Asp Ile Glu Ser Gln Asn Ile Cys Lys Gly Gly Glu Ile

明細書の序言(内容に変更なし)

5697 5724
 TCA CAT GGA TGG GGA CCT GGA ATG GTG GGA ATT GTG ATA AAA GCA TTT AGT TGT
 Ser His Gly Trp Gly Pro Gly Met Val Gly Ile Val Ile Lys Ala Phe Ser Cys

5751 5778
 GGA GAA AGG AAG ATA AAA ATT ACT CCT GTT ATG ATT ATA AGA GGT GAA ATA GAC
 Gly Glu Arg Lys Ile Lys Ile Thr Pro Val Met Ile Ile Arg Gly Glu Ile Asp

5805 5832
 CCC ACA GAA TGG TGT GGA GAT TGT TGG AAT TTG ATG TGT CTT AAA TAT TCA CCT
 Pro Thr Glu Trp Cys Gly Asp Cys Trp Asn Leu Met Cys Leu Lys Tyr Ser Pro

5859 5886
 CCA AAT ACA TTG CAG AGG CTT GCT ATG CTG GCG TGT GGC AAA GAG GCT AAA GAA
 Pro Asn Thr Leu Gln Arg Leu Ala Met Leu Ala Cys Gly Lys Glu Ala Lys Glu

5913 5940
 TGG AGA GGC TGT TGT AAT CAG CGT TTT GTT TCT CCT TTC AGA ACA CCA TGT GAT
 Trp Arg Gly Cys Cys Asn Gln Arg Phe Val Ser Pro Phe Arg Thr Pro Cys Asp

5967 5994
 CTA GAG GTC GTC CAG AAC AAG CCT AAA AGG AAT TTA TTG TGG ACG GGA GAA TTA
 Leu Glu Val Val Gln Asn Lys Pro Lys Arg Asn Leu Leu Trp Thr Gly Glu Leu

6021 6048
 TGA ATG GAA GAA ATA ATC CCA CTG TTT AAT AAG GTT ACA GAA AAG TTA GAT AGA
 Met Glu Glu Ile Ile Pro Leu Phe Asn Lys Val Thr Glu Lys Leu Asp Arg

6075 6102
 GAA CCA GCT ATT AGA TTA TTT ATC TTG GCT TAT CAG GTA GAC AGA TAC AGA TTT
 Glu Pro Ala Ile Arg Leu Phe Ile Leu Ala Tyr Gln Val Asp Arg Tyr Arg Phe

6129 6156

明細書の序言(内容に変更なし)

ATT AGA ATT TTA CAA TTA TTA CTT TGG AGA GAT AGA TTT AAG TCA ATT AAT TCT
Ile Arg Ile Leu Gln Leu Leu Leu Trp Arg Asp Arg Phe Lys Ser Ile Asn Ser

6183 6210
AAA TAT TGT TTA TGC TGG CTG TGC TGC AAG TCT GCT TAT TGG CGC TTG CAA TCT
Lys Tyr Cys Leu Cys Trp Leu Cys Cys Lys Ser Ala Tyr Trp Arg Leu Gln Ser
Met Leu Ala Val Leu Gln Val Cys Leu Leu Ala Leu Ala Ile Tyr

6237 6264
ACA TTA TCC ATA AAT ACT GCC TAG AAA TAT TTC TTT TAA TAT TTC ATC TGC AGA
Thr Leu Ser Ile Asn Thr Ala
Ile Ile His Lys Tyr Cys Leu Glu Ile Phe Leu Leu Ile Phe His Leu Gln Ile

6291 6318
TAT AAA CAT GGC AGA GGG GGG ATT TAC TCA TAA TCA ACA ATG GAT AGG ACC AGA
Met Ala Glu Gly Gly Phe Thr His Asn Gln Gln Trp Ile Gly Pro Glu
env

6345 6372
GGA AGC TGA AGA ATT GTT GGA TTT TGA TAT AGC TGT ACA AAT GAA TGA AGA AGG
Glu Ala Glu Glu Leu Leu Asp Phe Asp Ile Ala Val Gln Met Asn Glu Glu Gly

6399 6426
TCC ATT AAA CCC AGG AGT AAA CCC ATT TAG GGT ACC AGG CAT TAC TTC ACA AGA
Pro Leu Asn Pro Gly Val Asn Pro Phe Arg Val Pro Gly Ile Thr Ser Gln Glu

6453 6480
AAA GGA TGA TTA TTG TAA GAT CTT ACA AAC AAA ACT ACA AGA ATT AAA GAA TGA
Lys Asp Asp Tyr Cys Lys Ile Leu Gln Thr Lys Leu Gln Glu Leu Lys Asn Glu

6507 6534
AGT CAA AGA GGT AAA AAT TGA AGA AGG AAA TGC AGG TAA GTT TAG AAG GGC AAG
Val Lys Glu Val Lys Ile Glu Glu Gly Asn Ala Gly Lys Phe Arg Arg Ala Arg

明細書の序言(内容に変更なし)

6561 6588
ATA TTT AAG ATA TTC TGA TGA AAA TGT GCT ATC CAT AGT CTA TTT GCT AAT AGG
Tyr Leu Arg Tyr Ser Asp Glu Asn Val Leu Ser Ile Val Tyr Leu Leu Ile Gly

6615 6642
ATA TCT AAG ATA TTT AAT AGA TCA TAG GAG TTT AGG ATC TTT GAG ACA TGA TAT
Tyr Leu Arg Tyr Leu Ile Asp His Arg Ser Leu Gly Ser Leu Arg His Asp Ile

6669 6696
AGA CAT AGA AAC ACC TCA AGA GGA ACA TTA CAA TAA TAG TGA AAA GGG TAC CAC
Asp Ile Glu Thr Pro Gln Glu His Tyr Asn Asn Ser Glu Lys Gly Thr Thr

6723 6750
ATT AAA TAT AAA ATA TGG GAG AAG ATG TTG TAT TAG CAC ATT TAT TAT GTA TTT
Leu Asn Ile Lys Tyr Gly Arg Arg Cys Cys Ile Ser Thr Phe Ile Met Tyr Leu

6777 6804
AAT CCT TTT TGC AGG AGT AGG CAT CTG GCT CGG AGC TAG GGC GCA AGT AGT GTG
Ile Leu Phe Ala Gly Val Gly Ile Trp Leu Gly Ala Arg Ala Gln Val Val Trp

6831 6858
GAG ACT TCC CCC TTT AGT AGT TCC AGT AGA TGA TAC AGA AAT AAT ATT TTG GGA
Arg Leu Pro Pro Leu Val Val Pro Val Asp Asp Thr Glu Ile Ile Phe Trp Asp

6885 6912
TTG TTG GGC ACC AGA GGA ACC GGC TTG TCA AGA TTT CTT GGG AAC AAT GAT ATA
Cys Trp Ala Pro Glu Glu Pro Ala Cys Gln Asp Phe Leu Gly Thr Met Ile Tyr

6939 6966
TCT AAA AGC AAA TGT CAA TAT AAG TAT ACA AGA AGG ACC TAC ATT GGG AAA TTG
Leu Lys Ala Asn Val Asn Ile Ser Ile Gln Glu Gly Pro Thr Leu Gly Asn Trp

特開平 4-126085 (10)

明細書の注(内容に変更なし)

6993 7020
GGC AAG AGA AAT TTG GTC CAC ATT ATT TAA AAA GGC TAC AAG GCA ATG TAG AAG
Ala Arg Glu Ile Trp Ser Thr Leu Phe Lys Lys Ala Thr Arg Gln Cys Arg Arg

7047 7074
GGG AAG AAT CTG GAG GAG ATG GAA TGA GAC TAT AAC AGG ACC ATT AGG ATG TGC
Gly Arg Ile Trp Arg Arg Trp Asn Glu Thr Ile Thr Gly Pro Leu Gly Cys Ala

7101 7128
AAA CAA CAC CTG TTA TAA TAT CTC GGT AGT GGT ACC TGA TTA TCA ATG TTA TGT
Asn Asn Thr Cys Tyr Asn Ile Ser Val Val Val Pro Asp Tyr Gln Cys Tyr Val

7155 7182
AGA CAG AGT AGA TAC ATG GTT GCA AGG GAA AGT TAA TAT TTC ACT ATG TTT GAC
Asp Arg Val Asp Thr Trp Leu Gln Gly Lys Val Asn Ile Ser Leu Cys Leu Thr

7209 7236
AGG AGG AAA GAT GCT ATA TAA TAA AGA AAC AAG ACA ATT AAG TTA TTG TAC AGA
Gly Gly Lys Met Leu Tyr Asn Lys Glu Thr Arg Gln Leu Ser Tyr Cys Thr Asp

7263 7290
TCC ACT GCA AAT TCC ATT GAT TAA TTA TAC ATT TGG GCC TAA TCA AAC TTG TAT
Pro Leu Gln Ile Pro Leu Ile Asn Tyr Thr Phe Gly Pro Asn Gln Thr Cys Met

7317 7344
GTG GAA CAC ATC TTT GAT CAA AGA TTC TGA GAT ACC AAA ATG TGG ATG GTG GAA
Trp Asn Thr Ser Leu Ile Lys Asp Ser Glu Ile Pro Lys Cys Gly Trp Trp Asn

7371 7398
CCA AGT AGC TTA TTA CGA TAC TTG TAA ATG GGA AGA AGC TAA TGT GAC ATT TCA
Gln Val Ala Tyr Tyr Asp Thr Cys Lys Trp Glu Glu Ala Asn Val Thr Phe Gln

明細書の注(内容に変更なし)

7425 7452
GTG TCA CAG AAC ACA AAG TCA ATC AGG ATC ATG GAT TAG AAC AAT CTC CTC ATG
Cys His Arg Thr Gln Ser Gln Ser Gly Ser Trp Ile Arg Thr Ile Ser Ser Trp

7479 7506
GAA ACA AAG AAA TAG ATG GGA ATG GAG GCC AGA CTT TGA AAG TGA GAA AGT AAA
Lys Gln Arg Asn Arg Trp Glu Trp Arg Pro Asp Phe Glu Ser Glu Lys Val Lys

7533 7560
AAT ATC ATT ACA ATG TAA TAG TAC AAA AAA CTT AAC GTT TGC AAT GAG AAG TTC
Ile Ser Leu Gln Cys Asn Ser Thr Lys Asn Leu Thr Phe Ala Met Arg Ser Ser

7587 7614
AAG TGA TTA TTA TGA TGT ACA AGG AGC ATG GAT AGA ATT TGG ATG TCA TAG GAA
Ser Asp Tyr Tyr Asp Val Gln Gly Ala Trp Ile Glu Phe Gly Cys His Arg Asn

7641 7668
TAA ATC AAA AAG GCA CTC CGA GGC AAG ATT TAG AAT AAG ATG TAA ATG GAA TGA
Lys Ser Lys Arg His Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Arg Cys Lys Trp Asn Glu

7695 7722
AGG AAA TAA TAT CTC ACT TAT TGA TAC GTG TGG GAC AAA TCC AAA TGT CAC AGG
Gly Asn Asn Ile Ser Leu Ile Asp Thr Cys Gly Thr Asn Pro Asn Val Thr Gly

7749 7776
AGC CAA CCC GGT AGA TTG TAC TAT GAA GGC AAA CAC TAT GTA CAA TTG CTC TTT
Ala Asn Pro Val Asp Cys Thr MET Lys Ala Asn Thr MET Tyr Asn Cys Ser Lys

7803 7830
ACA AGA TAG TTT TAC TAT GAA AAT AGA GGA TCT TAT TGT ACA TTT TAA TAT GAC
Gln Asp Ser Phe Thr Met Lys Ile Glu Asp Leu Ile Val His Phe Asn Met Thr

特開平4-126085 (11)

明細書の序言(内容に変更なし)

7857 7884
AAA AGC TGT GGA ATT GTA TAA TAT TGC TGG AAA TTG GTC TTG CAC ATC GGA TTT
Lys Ala Val Glu Leu Tyr Asn Ile Ala Gly Asn Trp Ser Cys Thr Ser Asp Leu

7911 7938
ACC AAA AGG ATG GGG ATA TAT GAA CTG TAA TTG TAC AAA TGG GAC TGA TAA TAG
Pro Lys Gly Trp Gly Tyr Met Asn Cys Asn Cys Thr Asn Gly Thr Asp Asn Ser

7965 7992
TGA AAC AAA AAT GGC ATG CCC TAA GAA CCA GGG TAT TTT AAG AAA TTG GTA CAA
Glu Thr Lys Met Ala Cys Pro Lys Asn Gln Gly Ile Leu Arg Asn Trp Tyr Asn

8019 8046
CCC AGT CGC AGG GTT AAG ACA GGC GTT AAT AAA ATA TCA AGT AGT AAA ACA GCC
Pro Val Ala Gly Leu Arg Gln Ala Leu Ile Lys Tyr Gln Val Val Lys Gln Pro

8073 8100
AGA GTA TTT GAT AGT GCC GGA AGA AGT TAT GCA GTA TAA ATT CAA ACA AAA GAG
Glu Tyr Leu Ile Val Pro Glu Glu Val Met Gln Tyr Lys Phe Lys Gln Lys Arg

8127 8154
AGC AGC TAT TCA TAT TAT GTT AGC TCT TGC GAC AGT GTT ATC TAT GGC TGG AGC
Ala Ala Ile His Ile Met Leu Ala Leu Ala Thr Val Leu Ser Met Ala Gly Ala

8181 8208
AGG AAC GGG TGC CAC TGC TAT TGG AAT GGT GAC TCA ATA TCA TCA AGT TTT GGC
Gly Thr Gly Ala Thr Ala Ile Gly Met Val Thr Gln Tyr His Gln Val Leu Ala

8235 8262
TAC TCA TCA ACA AGC ATT GGA AAA AAT AAC TGA GGC ACT GAA AAT AAA TAA TTT
Thr His Gln Gln Ala Leu Glu Lys Ile Thr Glu Ala Leu Lys Ile Asn Asn Leu

明細書の序言(内容に変更なし)

8289 8316
AAG GCT AAT TAC CTT AGA GCA CCA AGT ATT AGT GAT AGG ATT AAG AGT AGA GGC
Arg Leu Ile Thr Leu Glu His Gln Val Leu Val Ile Gly Leu Arg Val Glu Ala

8343 8370
TAT AGA AAA ATT CTT ATA TAC AGC TTT TGC TAT GCA AGA ATT AGG ATG CAA TCA
Ile Glu Lys Phe Leu Tyr Thr Ala Phe Ala Met Gln Glu Leu Gly Cys Asn Gln

8397 8424
AAA TCA ATT CTT TTG TAA AAT TCC TCC CAG CCT ATG GAG TAT GTA TAA CAT GAC
Asn Gln Phe Phe Cys Lys Ile Pro Pro Ser Leu Trp Ser Met Tyr Asn Met Thr

8451 8478
TTT GAA TCA AAC AAT CTG GAA TCA TGG AAA TAT CTC ATT GGG GAA TTG GTA TAA
Leu Asn Gln Thr Ile Trp Asn His Gly Asn Ile Ser Leu Gly Asn Trp Tyr Asn

8505 8532
TCA AAC AAG AGA TTT GCA AAA TAA ATT TTA TGA GAT AAT AAT GGA TAT AGA ACA
Gln Thr Arg Asp Leu Gln Asn Lys Phe Tyr Glu Ile Ile Met Asp Ile Glu Gln

8559 8586
AAA TAA TGT ACA AGG GAA AAC TGG AAT ACA ACA ATT ACA GAA ATG GGA AAA TTG
Asn Asn Val Gln Gly Lys Thr Gly Ile Gln Gln Leu Gln Lys Trp Glu Asn Trp

8613 8640
GGT GGG ATG GAT AGG CAA AAT CCC TCA ATA TTT AAA AGG ACT TCT TGG TAG TGT
Val Gly Trp Ile Gly Lys Ile Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Leu Leu Gly Ser Val

8667 8694
GTT GGG AAT AGG TCT AGG AAT CTT ACT ACT TAT ATG CTT GCC TAC ATT AGT

特開平 4-126085 (12)

明細書の序言(内容に変更なし)

Leu Gly Ile Gly Leu Gly Ile Leu Leu Leu Ile Cys Leu Pro Thr Leu Val
 8721 8748
 AGA TTG TAT AAG AAA CTG TAC GAA TAA AAT ACT GGG ATA TAC AGT TAT TGC AAT
 Asp Cys Ile Arg Asn Cys Thr Asn Lys Ile Leu Gly Tyr Thr Val Ile Ala Met
 8775 8802
 GCC TGA AAT AGA TGA TGA AGA AGT ACA CCT ATC AGT GGA ATT GAG GAG AAA TGG
 Pro Glu Ile Asp Asp Glu Glu Val His Leu Ser Val Glu Leu Arg Arg Asn Gly
 Met Ala
 8829 8856
 CAG GCA ATG TGG CAT ATC TGA AAA AGA GGA GGA ATG ATG AAG CAT CTC CGG ACT
 Arg Gln Cys Gly Ile Ser Glu Lys Glu Glu Glu
 Gly Asn Val Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Arg Asn Asp Glu Ala Ser Pro Asp Cys
 8883 8910
 GTA AAA TAC AGG AGA GAT GCT GAG CTG ATT TCT TCC CTT TGA GGA GGA TGT GTC
 Lys Ile Gln Glu Arg Cys Met Cys His
 8937 8964
 ATA TGA ATC CAT TTC AAA TCA AAA TAA CAT TAA AAT CTG TAT TGC AAG GCA AAC
 Met Asn Pro Phe Gln Ile Lys Ile Thr Leu Lys Ser Val Leu Gln Gly Lys Arg
 8991 9018
 GTA AGA GAC AAC GAA GAA GAA GGA AGA AGA AGG CCT TCA AAC ATA TGA TGG CAA
 Lys Arg Gln Arg Arg Arg Arg Lys Lys Ala Phe Lys His Met Met Ala Asn
 9045 9072
 ATC TAG AGA ACC GCT TTA AGA TGC TGT TTG GCA CAC CGT CAA CCA CAG ACG AAA
 Leu Glu Asn Arg Phe Lys Met Leu Phe Gly Thr Pro Ser Thr Thr Asp Glu Thr

明細書の序言(内容に変更なし)

- ② ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAの gag 遺伝子に相補性を示すDNAであって、請求項1記載のDNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、gag 領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。
- ③ ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAの env 遺伝子に相補性を示すDNAであって、請求項1記載のDNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、env 領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。
- ④ 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAを含むプラスミド。
- ⑤ プラスミドがpF1V-TM2又はpF1V-gag [NcoI]である請求項4に記載のプラスミド。
- ⑥ 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAによってコードされるポリペプチドの全部又は一

明細書の序言(内容に変更なし)

9126 9099
 CAG AAG AAA AAA CAT CTG CAA AAG AAA AAA GGG TGG ACT GGG AAG ATT ATT GGG
 Glu Glu Lys Thr Ser Ala Lys Glu Lys Arg Val Asp Trp Glu Asp Tyr Trp Asp
 PPT U3
 9180 9153
 ATC CTG AAG AAA TAG AGA AAA TGC TGA TGG ACT GAG GGC GCA CAT AAA CAA GTG
 Pro Glu Glu Ile Glu Lys Met Leu Met Asp
 9207 9234
 ACA GAT GAA AAA CAG CTG AAT ATG AGT CAG AGT TAA ATG CTA GCA GCT GCT TAA
 9261 9288
 CCG CAA AAC CAC ATC CTA TGT AAA GCT TGC CGA TCA CGT GTA TCT TGC TCC ATT
 9315
 GTA AGA GTA TAT AAC CAG TGT TTT TTA AAG CTT CGA GG

特開平 4-126085 (13)

明細書の書き(内容に変更なし)

部をコードする塩基配列を有し、必要に応じて 5' 末端にメチオニンをコードするコドンを含む DNA が、プロモーターの下流に存在するベクター内のクローニング部位に導入されて含むことを特徴とする発現ベクター。

(7) 発現ベクターがプラスミドである請求項 6 に記載の発現ベクター。

(8) プラスミドが pA T-T r p E-F I V g a g 又は pA T-F I V g a g である請求項 5 に記載の発現ベクター。

(9) 請求項 6～8 のいずれか一項に記載の発現ベクターで宿主を形質転換して得られた形質転換体。

(10) 宿主が大腸菌である請求項 9 に記載の形質転換体。

(11) 大腸菌が *E. coli* HB101 株である請求項 10 に記載の形質転換体。

(12) 請求項 9～11 のいずれか一項に記載の形質

明細書の書き(内容に変更なし)

転換体を培養し、蓄積して得られる組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド。

(13) 請求項 12 に記載の組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを抗原として含有するネコ免疫不全ウイルス感染診断用検査薬。

(以下全文)

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子 RNA に相補性を示す DNA、該 DNA を含むプラスミド及び発現ベクター、該発現ベクターを含有する形質転換体、該形質転換体を培養して得られる組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド、並びに該ポリペプチドを含有するネコ免疫不全ウイルス感染診断用検査薬に関する。

[従来の技術]

後天性免疫不全症候群 (Acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) は、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) が引き起こす重篤な免疫不全症であり、現在では全世界的に広がりつつありその治療法の開発が望まれている。

AIDS の原因ウイルスとして RNA を遺伝子として持つレトロウイルスであるヒト免疫不全ウイルス

1 型 (HIV-1) が最初に発見、分離され [M. A. Grand ら, Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., Vol. 83, p. 4087, 1986]、また最近においては、パスツール研究所のグループによって、AIDS の新しい病因ウイルスとして西アフリカの AIDS 患者よりヒト免疫不全ウイルス 2 型 (HIV-2) が発見、分離されている [F. Clavel ら, Nature (London), Vol. 324, p. 691, 1987]。

一方、AIDS ウイルスに類似するレトロウイルスがサルからも発見、分離されている。たとえば、ベンガルサルより SIV-MAC [Newmark ら, Nature (London), Vol. 326, p. 548, 1987]、またアフリカミドリザルより SIV-AGM が発見、分離されている。

ネコにおいては、最近、米国においてベタルマ株が単離され、その遺伝子のクローニングが報告されたのみである [R. A. Olstad ら, P. N. A. S. p. 244 (1988)]。このウイルスに感染することによ

りその臨床像としては、様々な口内炎、慢性呼吸器疾患、慢性皮膚疾患、白血球減少、各種日和見感染症等が報告されている（Ishidaら、*Jpn. J. Vet. Sci.*, **59**, 1988）。

このウイルスの抗原性は、HIV、SIV、BIV、VSV血清などとは反応しないことが知られている。現在FIV感染症の診断は実験室において抗体の検出により行なわれているがこの方法は、感染リンパ球を抗原とした間接蛍光抗体法、精製ウイルスを抗原としたウエスタンブロット法が行なわれているのみである（Pedersenら、*Science*, **235**, 790, 1987）。

〔発明が解決しようとする課題〕

エイズの原因ウイルスであるHIVにおいては、個々のウイルス間でその塩基配列が変異しており、その多様性が見いだされている。このウイルスは場所によりあるいは経時的に変異し、遺伝的な均

一性がないため、このウイルスに対するワクチンの開発には多くの困難がある。従って、エイズウイルスについての遺伝子の十分な説明が望まれている。

HIV-1、2については、その一部のウイルスについて全塩基配列が決定されている〔B. E. Storerら、*Cell*, Vol. 45, p. 637 (1986)；M. Gajdardzicら、*Nature (London)*, Vol. 326, p. 662 (1987)〕。また、SIV-MAC、SIV-AGMについても全塩基配列が決定されている〔M. Fukasawaら、*Nature*, vol. 333, No. 6172, p. 457 (1988)；H. Tsurimoto, *Nature*, vol. 341, No. 6242, p. 539 (1989)〕。しかしながら、ネコ免疫不全ウイルス (FIV) については、FIV-Petersonの全塩基配列が決定されているに過ぎない〔P. H. A. S., Vol. 86, p. 5743 (1993)〕。

また、上述の公知診断方法では、ネコ免疫不全症候群関連抗原以外の非特異的な反応を示す抗原

をも含んでおり、このような抗原の非特異的免疫反応によりいわゆる偽陽性の検体が生じFIV感染の診断精度が低下するという問題があった。

本発明者らは、FIV-TM2株について研究を重ねた結果、FIV-TM2株の遺伝子RNAに相補性を示すDNAの全塩基配列を決定することに成功した。そしてこの成功により新たなエイズウイルスのワクチン、診断薬の開発が可能となり得ることを知見し本発明を完成するに至った。

本発明の目的は、上記の従来技術の問題点を克服し、FIVに対する抗体と特異的に反応する高い抗原性を有するポリペプチドの遺伝子工学的生産法を開発すること、およびこのペプチドを抗原として用いたFIV感染の診断において極めて高感度で精度良く診断できる検査薬を提供することである。

〔課題を解決するための手段〕

本発明は、ネコ免疫不全ウイルス (FIV-TM2) の遺伝子RNAに相補性を示す、第1図に示される読み取り枠に従って、gag, pol, vif及びenv領域に対応する第1図に示されたアミノ酸配列をコードするDNAを提供する。

本発明のFIV-TM2の遺伝子RNAに相補性を示すDNAの単離及びクローニングは、以下のようにして行なうことができる。

ネコより末梢血を採取し、フィコールを用いた遠心法により末梢血単核球細胞 (PBMC: Peripheral Blood Mononuclear Cell) を調製することによりウイルス感染を受けた細胞を得る。この細胞をコンカナバリン-Ⅰ、インターロイキン-2の存在下に培養し、正常ネコより分離したPBMCと共に更に培養し、染色体外DNAを単離することにより、レトロウイルスのRNAに相補性を

持つDNAにより主として構成される二本鎖DNAが得られる。FIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAは、その全配列中に存在する制限酵素認識部位として、SacI部位を有することが明らかとなり、この制限酵素認識部位を利用することによって、本発明のDNAのクローニングを有利に実施することができる。

PBMから染色体外DNAとして得られた本発明のDNAクローニングは、以下のようにして行なうことができる。

得られた染色体外DNAを制限酵素SacIで消化し、他方同様にSacI部位を唯一箇所制限酵素認識部位として有するラムダファージベクター、例えば、ラムダザップ等を用いてこれをSacIで消化する。消化後得られる両者のDNAを通常の連結バッファー中でT4DNAリガーゼ存在下に反応させて結合する。次いで、得られた反応液を用いて *in vitro*パ

ッケージング反応を行ないファージ粒子を構成する。このファージ粒子をラムダファージに感染性の大きな、たとえばE-12株LE392(ATCC33572)等に感染させて、寒天培地上に培養しラムダファージの溶菌ブランクを形成させる。このブランクが形成された寒天培地上にニトロセルロース膜を密着させてラムダファージの一部をニトロセルロース膜上に固定化しブランクハイブリダイゼーション法により、目的とするFIV-TM2のRNAに相補性を有するDNAが組み込まれたファージブランクを同定する。これに用いるプローブとしては、FIV-Petaluma由来のgag-pol遺伝子を含む断片をそれぞれニックトランスレーション法によりラジオアイソトープにより標識したDNAを使用することができる。このプローブとハイブリダイズするファージブランクよりFIV-TM2のRNAに相補性を有するDNAが組み込まれたラムダファージDNAが得ら

れる。このようにして得られるFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが組み込まれたラムダファージDNA(例えば、LambdaZAP-FIV-TM2 DNA)を更に形質転換可能な大腸菌E-12株JM-109 [J. Messing, Gene, 33, 103 (1985)]にクローニングベクターpUC118を用いてサブクローニングを行なう。即ち、例えば、ラムダZAP-FIV-TM2を制限酵素SacIで消化し、得られる断片を同様の制限酵素部位を有するプラスミド、例えば、pUC118又はpUC119 [J. Messingら, Method in Enzymology, Vol. 153, pp. 3-11, 1987]等に組み込む。得られるプラスミドを用いて大腸菌を形質転換しアンピシリン等の抗生物質耐性をマーカーとして形質転換体を選択し、形質転換体から通常の方法、例えばアルカリ抽出法により、目的とするFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAを得ることができる。

このようにして得られたプラスミドを制限酵素

SacIで消化することにより、本発明のFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが得られる。

またこのプラスミドは、FIV-TM2のウイルス構成蛋白質を発現するための発現ベクターの構築等に用いることができ、かかるプラスミドを提供することも本発明の目的の一つである。このようなプラスミドとしては、上記したようにpUC118にFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが組み込まれたプラスミド(pFIV-TM2又はpFIV-gag|rec) [第3図参照]以外にも、例えばpUC119等のpUC系プラスミド、pBR322などのpBR系ベクター等の通常使用される大腸菌由来のプラスミドにFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAを組み込んだプラスミドなどが挙げられる。

本発明のDNAの単離及びクローニングは、上記した方法に限定されず他の通常の方法によっても行なうことができる。即ち、例えばネコから採取

したリンパ球を培養し、得られた感染細胞の染色体に組み込まれたFIV-TM2のDNAより通常の方法に従い単離及びクローニングを行なうこともできる。

本発明のDNAが組み込まれたプラスミド(pFIV-TM2)を各種の制限酵素(*Iba*I, *Bam*HI, *Rse*II, *Pst*I, *Sac*I, *Eco*RI, *Bgl*II)などによって切断することにより第2図に示したFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAの各種制限酵素地図を作成した。この制限酵素地図を基にFIV-TM2のDNAの各種制限酵素による切断フラグメントを調製し、各フラグメントをプラスミドpUC118, 119などにサブクローニングし、得られるサブクローンをを用いて一本鎖ファージDNAを調製し、M13ジデオキシ法[F. Sangerら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, p. 3468 (1977)]によって各フラグメントの塩基配列を決定した。

このようにして、FIV-TM2のRNAに相補性を示

す本発明DNAの全塩基配列を決定し、その全塩基配列を第1図に示した。

本発明で対象とするDNAは、第1図に示されるものに限定されず、第1図に示した塩基配列と実質的に同様の作用を示すDNA、例えば遺伝子コードの読取に基づく第1図に示した塩基配列の誘導体、第1図に示した塩基配列の一部が欠失した又は一部が修飾された誘導体も包含される。

第1図に示したように、FIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAは、9326の塩基対(bp)からなる。その遺伝子の構成は、第2図に示したように、レンチウイルスで見られる構成と同じであり、5'LTR-pu1-pu2-vif-vpr-vsx-3'LTRで示される構成をしている。FIV-TM2に特徴的な点は、*env*領域の部分に4重所の小さなオープンリーディングフレームを有することである。これらの構成について以下に説明する。

1) LTR遺伝子

LTR遺伝子は、ウィルス遺伝子の両側に存在しウィルスの増殖に必須であり、また細胞の染色体DNAへのインテグレートに重要な役割を有するものである。FIV-TM2のLTR遺伝子は、362bpからなり、その構成エレメントは、U3, R, U5であり夫々215bp, 78bp, 69bpからなる。LTR遺伝子には、第1図に示したようにプロモーター、ポリA付加シグナル、プライマー結合部位(PBS)などが存在している。

2) gag遺伝子

*gag*遺伝子は、ウィルス粒子の内部構造を構成する蛋白質の前駆体ポリペプチドをコードする遺伝子である。FIV-TM2の*gag*遺伝子は、634から1980までのヌクレオチドに相当し459個のアミノ酸をコードしている。*gag*遺伝子によりコードされる前駆体ポリペプチドは、プロセッシングを受

けて3つの蛋白質p17, p24, p18になる。*gag*遺伝子により通常もっとも大量のウィルス蛋白質が発現されるので、かかるウィルス蛋白質に基づいてウィルス抗原を検出することができる。従って、*gag*遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、ウィルスの感染を診断する検査薬あるいは治療薬の開発に有用である。従って、本発明は、第1図に記載の本発明DNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、*gag*領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNAも提供する。かかる*gag*遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、例えば、*Sac*I-*Iba*Iなどの制限酵素によって切り出すことができる。

3) pol遺伝子

*pol*遺伝子は、逆転写酵素をコードする遺伝子であり1175から5247までのヌクレオチドに相当し、3124個のアミノ酸をコードしている。また、その

塩基配列のうち105bpが*gag*遺伝子とオーバーラップしている。

4) *vif* 遺伝子

vif 遺伝子は、FIV-TM2 遺伝子の中心部に位置しており5242から5934までのヌクレオチドに相当し251アミノ酸をコードしている。

5) *env* 遺伝子

env 遺伝子は、ウイルスの感染能を規定するウイルス粒子の表面の糖蛋白質をコードする遺伝子である。6210から8836までのヌクレオチドに相当し、外部糖蛋白質(EGP)とトランスメンブレン蛋白質(TMP)との前駆体ポリペプチドをコードしている。*env* 遺伝子は、ウイルス感染性を決める糖蛋白質をコードするものであり、従って*env* 遺伝子、すなわち*env* 遺伝子のRNAに相補性を有するDNAは、ネコ免疫不全症候群に対するワクチン、診断薬等を開発するための極めて有用な手段とな

りえるものである。それゆえ、本発明はまた、第1図に記載の本発明DNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、*env*領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNAも提供する。*env* 遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、例えば、制限酵素PstIなどで消化することによりFIV-TM2のDNAから切りだすことができる。

本発明はまた、第1図に示される本発明DNAによってコードされるポリペプチドの全部または一部をコードする塩基配列を有し、必要に応じて5'末端にメチオニンをコードするコドンを含むDNAが、プロモーターの下流に存在するベクター内のクローニング部位に導入されて含むことを特徴とする発現ベクターを提供する。ベクターとしては、プラスミド、ファージなどの慣用のベクターが使用できる。またプロモーターとしては、大腸菌、ファージ、酵母菌等に由来の慣用のプロ

モーターが挙げられ、後述の実施例ではトリプトファン合成酵素オペロン(*Trp*)が使用される。

本発明の発現ベクターの作製方法を以下に説明する。ここではFIVの*gag*領域遺伝子をコードする発現ベクターの作製を例示するが、その他の本発明DNA又はそのDNA断片の場合にも類似の方法で作製することができる。

プラスミドpFIV-*gag*[*Nco*]の作製(第3図参照)

FIV-TM2の遺伝子をコードするプラスミド(pFIV-TM2)より制限酵素HindIII-EcoRIを用いて完全に切断後、*gag*の5'側をコードする701塩基対のフラグメントを常法に従い低融点アガロースゲル電気泳動にて分離し、回収した。得られたフラグメントをクローニングベクターM13mp18をHindIII-EcoRIにて切断したものとT4-DNAリガーゼにて結合し、この反応液を用いて大腸菌E-12株JM101を形質転換し、LB-プレート上にて白色を呈す

る形質転換細胞を選択した。得られたクローンから、アルカリ法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析によって目的とする組換え体であることを確認した。この培養液より常法により一本鎖DNAを調製した。

得られた一本鎖DNAを用いてFIV-*gag*の開始コドンの上流に制限酵素認識部位*Nco*Iの導入を、TAKARA WalaTM-Gキットを用いてマニュアル通りに実施した。一本鎖DNAとM13mp18(M13mp18のマルチクローニングサイトを含む*Pst*II断片を欠失させたファージ)の二本鎖DNAを*Pst*IIにて消化したものとアニーリングバッファーを混合しGapped-duplex DNAを形成させた。この溶液に変異導入用合成オリゴマー(pCATGCCCATGGTGGTGTAGA)を混合し、65℃で15分間、37℃で15分間静置した後、エクステンションバッファー、DNAリガーゼ、T4DNAポリメラーゼを加え35℃で

特開平4-126085(18)

2時間反応を行った。その後0.1M EDTA(pH8)を加えて65℃で5分間加熱し反応を停止させ、この溶液を用いて大腸菌JM103に形質転換した。SOC培地と共に1時間培養後、上清を遠心後回収し、大腸菌MV1194培養液と共にLBプレートにてブランクを形成させた。得られたブランクから常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。

得られたプラスミドを制限酵素EcoRI-HindIII(各8ユニット)により切断後、低融点アガロースゲル電気泳動法により約0.7kbのフラグメントを分離、抽出した。pFIV-TM2より制限酵素EcoRI-IbaIにて消化後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動法によりgag遺伝子の後半部分に相当する1287塩基対のフラグメントを抽出した。得られたフラグメントをクローニングベクター

[pM13cat+cat-SK(+)]をEcoRI-IbaIにて切断したベクターと共にT4DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E-12 JM103株に形質転換した。得られた形質転換細胞よりプラスミドDNAを調製し、制限酵素分析により目的のクローンを選択した。得られたプラスミドをEcoRI-HindIIIにより完全に消化後、低融点アガロースゲル電気泳動法により分離、抽出した。得られたフラグメントと先に得たgagの5'側に相当する約0.7kbのフラグメントをT4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E-12 JM103株を形質転換した。

得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。得られたプラスミドをpFIV-gag[NcoI]と命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、Escherichia coli JM103/pFIV-gag[NcoI] (平成2年1月

16日付寄託、微工研第1161号)として寄託されている。かかるプラスミドpFIV-gag[NcoI]も本発明の範囲に包含される。

FIV-gag発現用ベクターの作製(第4図参照)

pAT-TpE-TGF-αIIをEcoRI-Sallにて切断後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動にてベクターフラグメントを分離、精製した。EcoRI-ClaI-NcoI-IbaI-Sall部位を有する合成フラグメントpAATTCATCATACCATGGTCTGAACACTCTAGAG, pTCGACTCTAGAGCTGTTGAGACCATGGTATCGATG, をベクターフラグメントと混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌K12 HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞より常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析により目的とするものであることを確認した。この発現用プラスミドをpAT-TpE-NcoIと命名した。pAT-TpE-NcoIを制限酵素NcoI-IbaIにて消化後、常法によりベクターフ

ラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分離した。

先に作製したpFIV-gag[NcoI]を上記と同様に処理し、1570塩基対よりなるgagフラグメントを同様に調製した。

これらのフラグメントを混合し、T4DNAリガーゼにより結合し、大腸菌K12 HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを調製し、制限酵素分析を行い目的とするものであることを確認した。得られたプラスミドをpAT-TpE-FIVgagと命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、Escherichia coli HB101/pAT-TpE-FIVgag(平成2年1月16日付寄託、微工研第1161号)として寄託されている。

FIV-gag直接発現型ベクターの作製は、以下のように行なう。

pAT-TpE-FIVgagを制限酵素ClaIにて切断後、

特開平4-126085 (19)

60℃にて酵素を失活させた後このうちの 1/10を用いてT4DNA リガーゼにて再結合を行った。この反応液を用いて大腸菌E12 HB101株を形質転換し、得られた形質転換細胞から制限酵素分析により目的とするプラスミドを確認した。得られたプラスミドをpAT-FIVgagと命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、[*Escherichia coli*: HB101/pAT-FIVgag (平成2年1月16日付寄託、微生物研究第11612号)]として寄託されている。

本発明の実施態様により、本発明は発現ベクターとしてpAT-TripE-FIVgag及びpAT-FIVgagを含む。

本発明は、さらに、上述の本発明発現ベクターで宿主を形質転換して得られた形質転換体を提供する。宿主としては、大腸菌、枯草菌、酵母などのこの分野で慣用される微生物が使用できる。好ましくは、宿主は大腸菌、例えばE. coli HB101株である。形質転換は常法に従って行うことがで

き、例えば大腸菌の場合には、Mandelらの方法[Mandel, MandelとHiga, A., J. Mol. Biol. 53, 159 (1970)]で実施し得る。

さらに、本発明形質転換体を以下に示すように、適切な培地中で培養して組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを得ることができる。従って、本発明は組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドをも提供するものである。本明細書中、「組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド」は、組換え操作で得られた、FIVポリペプチド及びFIVポリペプチドを含むポリペプチドを意味する。ここで、FIVポリペプチドは、本発明DNA又はそのDNA断片によりコードされるポリペプチドをいう。

pAT-TripE-FIVgagで大腸菌E12 HB101を形質転換した後、LB培地中アンピシリン(50μg/ml)存在化37℃にて一晚培養した。この培養液をM9

CA培地に加え吸光度が600 nmにおいて約0.1となるまで培養を行いβ-インドールアクリル酸を20μg/mlの濃度になるように加え更に6時間培養を行った。この培養液の一部を遠心により菌体を沈殿後、U. K. Laemmli等の方法[Nature, vol.227, 680-685 (1970)]に従って調製した試料用緩衝液を加え10分間煮沸後、10-20%のポリアクリルアミドのグラジエントゲルで電気泳動を行った。泳動後、R. Towbinらの方法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 4350-4354 (1979)]に従ってWesternブロッティング分析を行った。一次抗体は、FIV感染ネコ血清を用い、二次抗体はCappel anti-cal IgG(R+L) HRPを用いた。以上の方法で発現を確認後、菌体を0.1M Tris(pH 5)中で超音波破砕し、不溶性画分を遠心により集めた。この画分を1-1M尿素にて抽出後、8M尿素を含む100mM DTT, 1M NaCl, 0.1M Tris-HCl溶液にて45℃で60分間加

熱し抽出した。このようにして得られたTripE-FIVgag融合蛋白質の精製度は約60%であった。

得られた前記融合蛋白質は、例えばプロテアーゼ処理もしくは臭化シアン処理により限定分解を行うことによって、FIV-gag蛋白質またはその断片に分離してもよい。

あるいは、pAT-TripE-FIVgagと同様に、例えばFIV-gag直接発現型ベクターpAT-FIVgagで大腸菌株を形質転換し、ベクターを発現させた場合には、FIV-gag蛋白質を直接得ることができる。

TripE-FIVgag融合蛋白質、FIV-gag蛋白質、これらの蛋白質断片などの本発明組換え型FIVポリペプチドは、FIV-TM株(TM1及びTM2)感染ネコ血清中のFIV抗体と高感度、高精度で抗原抗体反応することが分かった(第5図)。このとき、該ポリペプチド抗原はFeLV(ネコ白血病ウイルス)感染ネコ血清とは陰性反応(第6図)を示すこと

時間平4-126085 (20)

から、FIV感染の診断に極めて有効に使用し得る。

従って、本発明はまた、組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを抗原として含有するFIV感染診断用検査薬を提供する。

上記のようにして精製したポリペプチドを用いて以下に示す検査方法を行なう方が良好な結果を示すが、場合によっては固体破砕後の抽出物をそのまま用いてウェスタンブロット法により検出することも可能である。

次に上記方法により得られたポリペプチドを抗原に用いてFIV感染ネコを診断するための検査薬について述べる。

この検査薬は、ポリペプチドを抗原として、被検液中からこの抗原と抗原-抗体反応を生じるIgGに対する抗体を検出することでFIV感染を診断するものである。この被検液にはFIVへ

って生じる不溶性抗体粒子上の凝集反応を検出する方法が挙げられる。精製度が不十分な場合にはウェスタンブロット法により検出することが望ましい。

本発明により、

1) FIV-TM2の遺伝子RNAに相補性を示すDNAの全塩基配列から推定される、FIV-TM2が作る蛋白質のアミノ酸配列により、診断用検査薬、治療薬、ワクチンなどの開発に有用な蛋白質の合成が可能となった；

2) FIV-TM2の遺伝子RNAに相補性を示すDNAを含むプラスミドに基づきFIV-TM2のウイルス構成蛋白質を発現するための発現ベクターを構築することができた；

3) FIV-TM2の遺伝子のDNAによりネコ免疫不全症候群に対するワクチン、診断用検査薬等の開発が可能となった。同様に、FIV-TM1の遺伝子のDNAによっても

の感染の診断を望むネコから常法により血液を採取し分離された血漿または血清、あるいは、これを適当な緩衝液により希釈したものを用いる。

FIV-TM2蛋白質によるELISAを用いたFIV-TM2抗体の検出法は、以下のように行う。

ELISA用マイクロプレートに15.2μl/井の濃度のT₁2-FIV-TM2蛋白質(抗原)を50μl/井ずつ分注し、4℃にて一晩放置する。抗原を捨てた後TPBSにて洗浄後、3%ゼラチン/TPBS溶液を0.1ml/井分注し室温で1時間放置する。更にTPBS溶液にて洗浄し、抗体希釈液にて希釈したネコ血清を加え、室温で1時間放置する。TPBS溶液にて2回洗浄後、二次抗体として rabbit anti IgG HRPを用い50μl/井ずつ分注する。TPBSにて洗浄後発色液を加え、1時間静置した後、吸光度を波長415nmにて測定する。

このような方法以外にも、抗原-抗体反応によ

ワクチン、診断用検査薬等の開発が可能となった。

以下の実施例により、本発明を更に詳細に説明する。

【実施例】

酵素、DNA

各種制限酵素は、宝酒造、日本ジーン、ファルマシアより購入したものを用い、酵素反応に用いる緩衝液は、10倍濃度のものを調製した。滅菌は、オートクレーブにより行なった。各緩衝液の組成は、制限酵素に添付されている説明書を基本的に採用した。

T4DNAリガーゼは、ファルマシアのものを使用し、反応用緩衝液は、50mMトリス塩酸(pH7.5)、10mM塩化マグネシウム、1mM DTT、1mM ATPとなるようにして、16℃にて一晩反応した。

クローニング用ファージベクターは、Stratagene社製のラムダZAPを用いた。

特開平4-126085 (24)

クローニング用プラスミドとしては、宝酒造製の pUC118.119 を用いた。

塩基配列決定用のベクターとしては、ファルマシア製の M13mp18.19 を用いた。

in vitro パッケージングには、Stratagene 社製の、Gigapack を使用した。

染色体外 DNA の抽出

ウイルスに感染している、ネコ末梢血単核球を、100μg/ml 濃度になるようにコンカナバリン A を加え 10% 胎児血清 100μg/ml のヒト組換えインターロイキン 2 を含む RPMI 1640 培地にて 12 時間培養を行なう。

ハートらの方法 [J. Mol. Biol., 25, 365 (1967)] に従って、染色体外 DNA (Extrachromosomal DNA) を、調製した。10⁷ 細胞に対して染色体外 DNA、0.6% SDS, 10mM EDTA (pH 7.5) 1ml を加え、ゆっくり回転して攪拌を行なう、4℃ で 8 時間放置

後、17000g で 30 分間遠心し、上清を得る。この溶液を、さらにプロナーゼ K 処理し、フェノール処理を行ない、エタノール沈澱を 2 回繰り返したもののについて、以後の実験に用いた。

染色体外 DNA 中の制限酵素認識部位の検出

クローニングを行なうに当たって、染色体外 DNA 中に唯一存在する制限酵素の切断部位を検出するために、染色体外 DNA を XbaI、PvuII、HindIII、PstI、SacI の 5 種類の制限酵素によって切断し、0.7% アガロースゲル電気泳動を行なった。このゲルをサザン法により、ニトロセルロースフィルターに転写し、ハイブリダイゼーションを行なった。プローブは、FIV-Pet10a 株由来の、arg 領域を含む、4 キロベースの DNA をニックトランスレーション法により、32-P でアイソトープラベルしたものを、使用した。

ニックトランスレーションは、アマシャム社製

のキットを用い、非活性として、1 × 10⁷ cpm/μg DNA を有するプローブを得た。ハイブリダイゼーションは、30% ホルムアミド、5xSSC、5xDe launhardt's、0.5% SDS 存在下、1 × 10⁶ cpm/μg となるようにプローブを加えて、42℃ で 18 時間行なった。洗浄の条件としては、2xSSC/0.1%SDS で 50 度、30 分後、0.5xSSC/0.1%SDS にて、50℃ 15 分間行なった。このフィルターを -70℃ で、一晚露出させ現像した。この結果より、染色体外 DNA は SacI にて一箇所切断させることが示された。

染色体外 DNA ライブラリーの作製

染色体 DNA (2mg) を制限酵素 SacI (10unit) にて完全に切断後、反応液を、等量のフェノール/クロロホルム (1:1) 混液にて 2 回抽出を行ない、2 等量のエタノールを加え、-80℃、30 分間放置後、遠心により DNA を沈澱として得た。沈澱を、20μl の TE (pH 8.0) に溶解し、1/5 量、

4 μl (400ng) に、1 ZAP (SacI) 1 μg を加え、全量を 10 μl になるようにして、T4-DNA リガーゼと一晚反応した。この反応液の半量を用いて in vitro パッケージング反応を行なった。得られたパッケージング反応液 0.5 μl より一部を採り、10 倍、100 倍希釈したものを用いて、タイトレーションを行なった。タイトレーションは、指示菌として、大腸菌 K-12 株 LE 392 を用いた。軟寒天培地中に塩化マグネシウムを含む LB 培地にて一晚培養した、指示菌を加え希釈したファージ溶液を加え LB 培地に重層し 37℃ で一晚培養した。出現したブラック数を数えて、このライブラリーのタイターとした。

ファージライブラリーのスクリーニング

FIV-TW2 の DNA を有するファージ (ラムダ E₁-FIV-TW2) のスクリーニングは、得られたファージライブラリーよりブラックハイブリダイゼーション

・シ法により行なった。1枚のプレートについて、約5千個のファージブランクが出現するようにまき、合計5万個のブランクについて、行なった。ニトロセルロースフィルターにブランクを写し取り、常法に従って、ブランクハイブリダイゼーションを行なった。プローブとしては、FIV-Pratt株由来の24-901領域をコードする2.7キロベースフラグメントを、ニクトランスレーション法によりアソートラベルしたものを用いた。ハイブリダイゼーションの条件は前に記したものと同様の方法にて行なった。得られたシグナル陽性を示すブランクを単一ブランクとして得られるまでこの操作を繰り返し行なった。

クローニ化された FIV-TM2 のサブクローニング
ハイブリダイゼーションにて陽性を示す単一ブランクをプレートからかき取り試験マグネシウムを含むLB培地にて37℃、8時間培養した。得ら

ロスゲル電気泳動で、1.5キロベースのフラグメントを分離しDNAを抽出した。得られたDNAフラグメントをpUC118 (SacI) 200gと混合シリガーゼ溶液存在下、T4-DNAリガーゼを加え16℃にて一晚反応した。この反応液を用いて、大腸菌K-12株JM109を形質転換し、IG-Ampプレート(10-プレート中、0.004% X-gal, 0.1mM IPTG, 50μg/ml ampicillin)にて、選択し得られた形質転換細胞より、アルカリ法にてプラスミドDNAを調製した。

塩基配列の決定

得られた制限酵素地図を基にして、各制限酵素の切断フラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分離し常法により回収した。得られたフラグメントをM13mp 18, 19の各領域にクローニングした。各フラグメントを持つ組換え体の形質転換細胞 (E. coli JM103, 109) をLB培地にて、

時間平4-126085 (22)

れた培養液にクロロホルム1滴を加えて、激しく攪拌し、3000gにて30分間遠心を行なった。得られた上清にSM緩衝液(50mM Tris-HCl (pH 8.0), 10mM MgCl₂, 0.2% Gelatin)を等量加え、DNaseを加え、室温で30分間放置する。この溶液に10%PEG 6000/2.5M塩化ナトリウム溶液半等量加え、水中にて1時間放置した後、10000gにて遠心した。得られたファージの沈澱を0.3mlのSM緩衝液に懸濁し、等量のクロロホルムを加えて良く混ぜ合わせ、遠心し、水層を分離した。この操作を繰り返し、ポリエチレングリコールを除去した。水層に、最終濃度5mMとなるようにEDTA及び、25mMとなるように塩化ナトリウムを加えた後に、フェノール抽出を行なった。この操作を、再度繰り返し、エタノール沈澱によりDNAを回収した。以上のようにして得られた、12AP-FIV-TM2 DNAを、制限酵素SmaIにて切断後、低融点アガ

一晚培養しこの培養液1mlを遠心した上清を集めた。これに20%PEG 6000/2.5M NaClを加え、室温にて放置後、遠心しファージ粒子を沈澱として得た。沈澱をT.E.S緩衝液に懸濁しフェノール抽出を行ない、エタノール沈澱により一本鎖DNAを得た。これをT.E.S緩衝液(10mM Tris-HCl pH 7.5/0.1mM EDTA/10mM NaCl)に溶解しシーケンシング反応に用いた。

シーケンシング反応は、宝酒造のジデオキシシーケンシングキットもしくはStratagene社のシークエナーキットを用い、プライマーとしては、M13プライマー(17塩基)を用い、[α-³²P]dCTPにて標識を行なった。配列解読用のゲルは、40又は80cmの長さのものをを用い、尿素存在下、6又は8%アクリルアミド、TBE緩衝液(19mM Tris, 19mMホウ酸, 2mM EDTA)により泳動を行なった。泳動は、1000Vで行ない、泳動後ゲルを乾

焼し Kodak X 線フィルム (XR-5) にて露光後、
現像した。得られたデータは、IntelliGenetics,
Inc. のプログラムを用いて処理した。

FIV-gag の開始コドン上流への制限酵素認 識部位の導入

FIV-TM2 の遺伝子をコードするプラスミド pFIV-
TM2 (2 μg) より制限酵素 HindIII-EcoRI (各 8
ユニット) を用いて完全に切断後、gag の 5' 側
をコードする 787 塩基対のフラグメントを常法に
従い低融点アガロースゲル電気泳動にて分離し、
回収した。得られたフラグメントをクローニング
ベクター M13mp18 を HindIII-EcoRI にて切断した
ものと T4-DNA リガーゼにて結合し、この反
応液を用いて大腸菌 JM109 株に形質転換し、
LB-プレート上にて白色を呈する形質転換細胞
を選択した。得られたクローンから、アルカリ法
によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析によ

CH₃COONa, 5mM MgCl₂, 5mM DTT, 1mM NAD, 0.5
mM dATP, 0.5mM dGTP, 0.5mM dCTP, 0.5mM dTTP)
25 μl, DNA リガーゼ (60 ユニット), T4 DNA ポ
リメラーゼ (1 ユニット) を加え 25℃ 2 時間反応を
行った。その後 0.2M EDTA (pH 8) 3 μl を加えて 65℃
5 分加熱し反応を停止させ、この溶液を用いて大
腸菌 DH5α 株に形質転換した。SOC 培地と
共に 1 時間培養後、上清を遠心後回収し、大腸菌
JM109 株培養液と共に LB-プレートにてブルーを
形成させた。得られたブルーから常法によりプ
ラスミド DNA を抽出し、制限酵素分析及び塩基
配列の決定により目的のクローンであることを確
認した。得られたプラスミド (1 μg) を制限酵素
EcoRI-HindIII (各 8 ユニット) により切断後、
低融点アガロースゲル電気泳動法により約 0.7 kb
のフラグメントを分離、抽出した。

特開平 4-126085 (23)

て目的とする組換え体であることを確認した。こ
の培養液より乗法により一本鎖 DNA を調製した。
得られた一本鎖 DNA を用いて FIV-gag の開始コ
ドンの上流に制限酵素認識部位 NcoI の導入を、
TAKARA M13mp18-G キット (宝酒造) を用いてマニ
ュアル通りに実施した。一本鎖 DNA (0.1 μmol)
と、M13mp18 (M13mp18 のマルチクローニングサイ
トを含む PvuII 断片を欠失させたファージ) の二
本鎖 DNA を PvuII にて消化したもの (0.1 μg) と
アニーリングバッファー (200mM Tris-HCl, pH 8,
100mM MgCl₂, 500mM NaCl, 10mM DTT) (1 μl)
を混合し、滅菌水を加えて全量を 10 μl にした。こ
れを 100℃ 3 分、65℃ 10 分静置し Gapped-duplex
DNA を形成させた。この溶液に複製導入用合成オリ
ゴマー (5'-CATTCGCCATGCTGCTGTAGA-3') を混
合し、65℃ 15 分、37℃ 15 分静置した後、エクステ
ンションバッファー (50mM Tris-HCl, pH 8, 50mM

FIV-gag 遺伝子の作製

pFIV-TM2 (2 μg) より制限酵素 EcoRI-XbaI (各 8
ユニット) にて消化後、常法により低融点アガロ
ースゲル電気泳動法により gag 遺伝子の後半部
分に相当する 1287 塩基対のフラグメントを抽出し
た。得られたフラグメントをクローニングベク
ター (Stratagene 社の pBluescript SK(-)) を EcoRI-
XbaI にて切断したベクター (50 μg) と共に T4 DNA リ
ガーゼにより結合し、大腸菌 JM109 株に形質
転換した。得られた形質転換細胞よりプラスミド
DNA を調製し、制限酵素分析により目的のク
ローンを選択した。得られたプラスミド (1 μg) を
EcoRI-HindIII (各 8 ユニット) により完全に消化
後、低融点アガロースゲル電気泳動法により分離、
抽出した。得られたフラグメントと先に得た gag
の 5' 側に相当する約 0.7 kb のフラグメントを T4-
DNA リガーゼにより結合し、大腸菌 JM109 株

を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。得られたプラスミドをpFIV-gag[NcoI]と命名した。

FIV-gag発現用ベクターの作製

pAT-TripE-TGF- α II (特開昭63-28988参照) (1400bp) EcoRI-SalI (各8ユニット) にて切断後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動にてベクターフラグメントを分離、精製した。EcoRI-ClaI-NcoI-XbaI-SalI部位を有する合成フラグメント 5'-AATTCATCGATACCATCGGTCTGAACTCTAGAG, 3'-TCGACTCTAGAGTCTTCAGACCATCGGTATCGATG, 各18-SalIをベクターフラグメントと混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌[12] HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞より常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析により目的とする

再結合を行った。この反応液を用いて大腸菌[12] HB101株を形質転換し、得られた形質転換細胞から制限酵素分析により目的とするプラスミドを確認した。得られたプラスミドをpAT-FIVgagと命名した。

TripE-FIVgag融合蛋白質の発現、精製

pAT-TripE-FIVgagで大腸菌[12] HB101を形質転換したのち、LB培地中アンピシリン(50 μ g/ml)存在下37℃にて一晩培養した。この培養液(10ml)をM9 C/A培地(6.4mM Na_2HPO_4 , 0.85M NaCl , 0.1% NH_4Cl , 2mM MgSO_4 , 0.2%グルコース, 0.1mM CaCl_2 , 0.2%カザミノ酸)(12)に加え吸収度が600 nmにおいて約0.1となるまで培養を行い β -インドルアクリル酸を20 μ g/mlの濃度になるように加え更に6時間培養を行った。この培養液の一部を遠心により菌体を沈殿後、D.L. Loomis等[Nature, Vol. 227, 680-685(1970)]

特開平4-126085 (24)

ものであることを確認した。この発現用プラスミドをpAT-TripE-NcoIと命名した。pAT-TripE-NcoI(1400bp)を制限酵素NcoI-XbaI(各8ユニット)にて消化後、常法によりベクターフラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分取した。先に作製したpFIV-gag[NcoI](1400bp)を上記同様に処理し、1570塩基対よりなるgagフラグメントを同様に変換した。これらのフラグメントを混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌[12] HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを調製し、制限酵素分析を行い目的とするものであることを確認した。得られたプラスミドをpAT-TripE-FIVgagと命名した。

FIV-gag直接発現型ベクターの作製

pAT-TripE-FIVgag(4000bp)を制限酵素ClaI(8ユニット)にて切断後、68℃にて酵素を失活させた後このうちの1/10を用いてT4-DNAリガーゼにて

の方法に従って調製した試料用緩衝液を加え10分間煮沸後、10-20%のポリアクリルアミドのグラジエントゲルで電気泳動を行った。泳動後、E. Towbin等[P. N. A. S. USA, 76, 4350-4354 (1979)]の方法に従ってWestern blotting分析を行った。一次抗体は、FIV感染ネコ血清を用い、二次抗体はCappel社のanti-cal IgG(H+L) HRPを用いた。以上の方法で発現を確認後、菌体を0.1M Tris(pH 8.5)中で超音波破砕し、不溶性成分を遠心により集めた。この成分を1-1M尿素にて抽出後、8M尿素を含む10mM DTT, 1M NaCl, 0.1M Tris-HCl溶液にて45℃60分間加熱し抽出した。このようにして得られたTripE-FIVgag蛋白質の精製度は約80%であった。

同様に、FIV-gag直接発現型ベクター pAT-FIVgagで大腸菌株を形質転換し、ベクターを発現させた場合には、FIV-gag蛋白質が得られた。

FIV-gag 蛋白質による FIV-gag 抗体の ELISA 検出法

ELISA 用マイクロプレート (Nunc-immune plate Maxiorp F96) に 15.2μg/ml の濃度の TrpE-FIV gag 蛋白質 (抗原) を 50μl/ウェルずつ分注し、4℃にて一晩放置する。抗原を捨てた後 P B S にて洗浄後、3%ゼラチン/P B S 溶液を 0.1ml/ウェル分注し室温で 1 時間放置する。更に T P B S 溶液 (0.05N Tris/PBS) にて洗浄し、抗体希釈液 (50mM Na₂CO₃, 50mM NaHCO₃, pH8.5) にて希釈したネコ血清を加え、室温で 1 時間放置する。T P B S 溶液にて 2 回洗浄後、二次抗体として anti-cat IgG HRP を用い 50μl/ウェルずつ分注する。T P B S にて洗浄後発色液を加え、1 時間静置した後、吸光度を波長 415 nm にて測定する。以上のようにして、FIV-TM2 株を実験感染したネコの血清を用いて測定した結果、第 5 図に示すよう

に接種前、接種後 3 週間、8 週間後に於て抗体価の上昇が見られた。

F I V, F e L V 感染血清での交差反応性を確認するために、FIV(-), FeLV(+)ネコ血清、FIV(+), FeLV(-)ネコ血清、FIV(+), FeLV(+)ネコ血清を用いて測定した結果を第 6 図に示したが、FIV(+)血清においては、陽性の結果を示すが、FIV(-), FeLV(+)においては陰性でありこの診断薬は F e L V 感染血清との交差は見られないことが示された。

[発明の効果]

以上に詳述した本発明で提供される FIV-TM2 の遺伝子 R N A に相補性を示す D N A 及び FIV-TM2 の遺伝子 R N A に相補性を示す D N A の一部でその gag, pol 遺伝子にそれぞれ相当する D N A は、これを発現させることによって、ネコ免疫不全症候群の診断用検査薬、治療薬等の開発に有

用な F I V ポリペプチドを得ることができた。

このポリペプチドは、特に、F I V に対する抗体と特異的に反応する良好な抗原となることから、F I V 感染ネコの診断用検査薬として使用できる。また、他の非特異的免疫反応を生ずる抗原を含んでいないため F I V に感染していないにも関わらず陽性としての結果を生じるいわゆる偽陽性の検体を生じることなく F I V 感染の診断を行なうことができる。従って、本発明による診断薬は、F I V 感染ネコの早期発見、感染防止を行なうことができ産業上の利用価値は極めて大きいものである。

さらにまた、ネコ免疫不全ウイルス研究の有用性という点で H I V, S I V 遺伝子の核酸配列の比較よりこれらのウイルス群の変異、進化のパターンを予測することができ、ワクチン開発において重要な知見を得ることが可能であるということ

が挙げられる。また、ヒト免疫不全症候群の感染から発症への機序の解析を実験的に可能とするためこのウイルス D N A を用いた系は、ワクチン開発、治療法開発、の動物実験モデルとして利用できる。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、ネコ免疫不全ウイルス (FIV-TM2) の RNA に相補性を示す DNA の全塩基配列及びこの塩基配列から推定される、gag, pol, rev 及び env 領域に対応するアミノ酸配列を示し、また第 2 図は、FIV-TM2 の RNA に相補性を示す DNA の制限酵素地図と遺伝子構成を示す。

第 3 図は、FIV-gag 遺伝子をコードするプラスミド pFIV-gag [NcoI] の構築手順を示し、また第 4 図は、FIV-gag 発現用ベクター pAT-TrpE-FIV-gag 及び FIV-gag 直接発現型ベクター pAT-FIV-gag の構築手順を示す。図中、Amp はアンピシリン耐性遺伝

因子を、また ← は複製開始点をそれぞれ示す。

第5図は、FIV-III 発現蛋白質を抗原として用いる、FIV-TM 株接種前後のネコ血清中 FIV-III 抗体の ELISA 測定結果を示し、図 (A) は FIV-TM 株を、また図 (B) は FIV-TM2 株を夫々接種した場合である。さらに、第6図は、FIV 又は FeLV 感染ネコ血清と FIV-III 発現蛋白質との交差反応性を ELISA で分析した結果を示す。

第 / 図 (その1)

27
TGC GAA CAT TAT TGG CAT CTT GAA GAA ATA GAG AAA ATG CTG ATG GAC TGA GGG
U3

81
CCC ACA TAA ACA AGT AGA TGA AAA ACA GCT GAA TAT GAG TCA GAG TTA TAT

135
GCT AUC AGC TGC TTA ACC GCA AAA CCA CAT CCT ATG TAA AGC TTG CCC ATG AGC

189
TGT ATC TTG CTC CAT TGT AAG AGT ATA TAA CCA GTG TTT TTT AAA GCT TCG AGC

243
AGT CTC TCT GTT GAG GGC TTT CGA GTT CTC CCT TGA GGC TCC CAC AGA TAC TAT

297
AAA AAA TTG AGT TTT GAG ATT GAA CCC TGT CTT GTA TCT GTG TAA TTT CTC TTA

351
CCT GCG AAT CCG TGG AGT CCG GGC CAG GGA CCT CCG AGT TGG GGC CCG AAC AGC
P85

405
GAC TTG AAA AAG AGT TAG GGA AGT GAA GCT AGA GCA ATA GAA AGC TGT CAA

459
GCA GAA CTC CTG ACC TTG TGT GCG GAG CAG TTG CAG AGC CTG CTG GCA GTG

513
AGT ATC TCT AGT GCA GCA GAC CTG AGC TCT GGA TTA AGT CAC TAT TCG CAG GGC

567
TAG ATA AAG ATT ATC TGG TGA CTC TTC GCG GAT COT CAA GGC AGG AGA TTC GTC

621
GGG GCA CAG CCA ACA AGG TAG GAG AGA TTC TAC AGC AAC ATG GGG AAT GGA CAG
Met Gly Asn Gly Gln
949

675
GGG GCA GAC TGG AAA ATG GGC ATT AAG AGA TGT AGT GGT GGT GTA GGA GTA
Gly Arg Asp Tyr Lys Met Ala Ile Lys Arg Cys Ser Asn Val Ala Val Gly Val

729
GGG AGT AAG AGT AAA TTC GGA GAA GGA AAC TTT AGA TGG GGC ATA AGG ATG
Gly Ser Lys Ser Lys Arg Phe Gly Gly Asn Phe Arg Tyr Ala Ile Arg Met

783
GCT AAT GTA ACT ACA GCA CCA CCA GGT GAT ATA CCA GAG ACT TTA GAA CAG
Ala Asn Val Thr Thr Gly Arg Gln Pro Gly Asp Ile Pro Gln Thr Leu Gln Gln

837
TTA AGA TCA ATT ATT TGT GAT TTA CAA CAC AGA AGA CAC TAT GCA TCT AGT
Leu Arg Ser Ile Ile Cys Asp Leu Gln Asp Arg Gln His Tyr Gly Ser Ser

891
AAG GAA ATT GAT ATG GCA ATT ACC ACT TTA AAA GGT TTT GCA GTG GCA GCA ATT
Lys Gln Ile Asp Met Ala Ile Thr Thr Leu Lys Val Phe Ala Val Ala Gly Ile

945
CTA AAT ATG ACT GTA TCT ACT GCG ACA GCA GCT GAA AAT ATG TAT GCT CAG ATG
Leu Asn Met Thr Val Ser Thr Ala Thr Ala Ala Gln Asn Met Tyr Ala Gln Met

999
GGA TTA GAC ACC AGA CCA TCT GTA AAA GAA AGT GGG GGA AAA GAA GAA GCA CCT
Gly Leu Asp Thr Arg Pro Ser Val Lys Gln Ser Gly Gly Lys Gln Gly Pro

1026

3591	AGC CCC CAC CAC CTG AGG TAG AAT TTA TAC ATG CAG CCT TAA GTA TAA AAA GGG Ala Pro Pro Glu Val Glu Phe Ile His Ala Ala Leu Ser Ile Lys Arg Ala	3618	Gln Val Thr Val Leu Asp Ile Gly Asp Ala Tyr Phe Thr Ile Pro Leu Asp Pro
3655	CTC TAA GCA TGA TAC AAG ATG CCC CTA TAA TAG GAG CAG AAA CAT GGT ATT TAG Leu Ser Met Ile Gln Asp Ala Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Trp Tyr Ile Asp	3672	CAG ATT ATG CTC CTT ATA CTG CAT TTA CAT TAC CTA GGA AAA ATA ATG CAG GGC Asp Tyr Ala Pro Tyr Thr Ala Phe Thr Leu Pro Arg Lys Asn Asn Ala Gly Pro
3699	ATG GGA GTA GAA AAC AAG CAG CAG CAA GAG CAG CCT ATT GGA CAA ATA CAG Gly Ser Arg Lys Gln Gly Lys Ala Ala Arg Ala Tyr Trp Asn Thr Gly	3726	CAG GGA GAT ATG TAT GGT GCA GTT TAC CAC AGG GGT GGG TTT TAA CTC CAT Gly Arg Arg Tyr Val Trp Cys Ser Leu Pro Gln Gly Trp Val Leu Ser Pro Leu
3753	GCA AAT GGC AGA TAA TGG AGA TAG AAG GAA GTA ATC AAA AAG CAG AGG TAC AGG Lys Trp Gln Ile Met Glu Ile Glu Gly Ser Asn Gln Lys Ala Glu Val Gln Ala	3780	TAA TAT ATC AGA GTA CCT TAA ACA ATA TAT TAC AGC CAT TTA TCA MAC AAA ATT Ile Tyr Gln Ser Thr Leu Asn Asn Ile Leu Gln Pro Phe Ile Lys Gln Asn Ser
3807	CTT TAT TAT TGG CCT TAA AAG CAG GAT CAG AAG AAG TGA ATA TCA TAA CAG ATT Leu Leu Leu Ala Leu Lys Ala Gly Ser Glu Glu Met Asn Ile Ile Thr Asp Ser	3834	CTG AGT TAG ATA TTT ACC AAT ATA TGG ATG ATA TAT ATA TAG GAT CAA ATT TAA Glu Leu Asp Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Ile Tyr Ile Gly Ser Asn Leu Asn
3861	CAC AAT ATA TTT TGA ATC TTC TCA ACC AAC AAC CAG ATT TGA TGG AAG GAC TAT Gln Tyr Ile Leu Asn Ile Leu Asn Gln Gln Pro Asp Leu Met Glu Gly Leu Trp	3888	ATA AAA AAG AAC ATA AAC AAA AAG TAG AAG AAT TAA GAA AAT TGT TAT GGT Lys Lys Glu His Lys Gln Lys Val Glu Glu Leu Arg Lys Leu Leu Trp Tyr
3915	GGC AAG AGG TCT TAG AAC AAA TGG AAA AAG AAG TAG CAA TTT TTA TAG ACT GGG Gln Glu Val Leu Glu Gln Met Glu Lys Lys Ile Ala Ile Phe Ile Asp Trp Val	3942	GGG GAT TTG AAA CCC GGG AAG ACA AAT TAC AAG AAG AGC CCC CAT ATA AGT GGA Gly Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Gln Glu Glu Pro Pro Tyr Lys Trp Met
3969	TTC CTG GGC ATA AAG GTA TAC CAG GAA ATG AAG TAG ATA AAC TTT GCC AAA Pro Gly His Lys Gly Ile Pro Gly Asn Glu Glu Val Asp Lys Leu Cys Gln Thr	3986	TTC CAG AAA GCA CCA CAT TAA ATG AAC TAG AAG AAT TAG CAG GTA AAA TAA ACT Pro Glu Arg Pro Thr Leu Asn Glu Leu Gln Lys Leu Lys Leu Ala Gly Lys Ile Asn Trp
4023	CAA TGA TGA TTA TAG AAG GTG AGG GGA TAT TAC AGA AAA GAT CAG AAG ATT CAG Met Met Ile Ile Glu Gly Glu Gly Ile Leu Glu Lys Arg Ser Glu Asp Ala Gly	4050	GGG CCA GTC AGA CTA TCC CAG ACT TAA CTA TAA AAG AAG TAA CTA ACA TGA TGA Ala Ser Gln Thr Ile Pro Asp Leu Ser Ile Lys Glu Leu Thr Asn Met Met Arg
4077	GAT ATG ACT TAT TAG CTG CAG CAC AAG AAA CAC ATT TCT TGC CTG GAG AGG TAA Tyr Asp Leu Leu Ala Ala Gln Glu Thr His Phe Leu Pro Gly Glu Val Arg	4104	GAG GAG ATC AGA AAT TAG ACT CAA TAA GAG AAT GGA CCG TAG TAG AAG CCA AGA GAG Gly Asp Gln Lys Leu Asp Ser Ile Arg Glu Trp Thr Val Glu Ala Lys Arg Glu
4131	GAA TAG TAC CAA CAA CAA TAA TGC TAC CAA AAG GAC ACT GGG GAC TAA Ile Val Pro Thr Lys Thr Arg Ile Met Leu Pro Lys Gly His Trp Gly Leu Ile	4158	GAG TAC AAA AAG CTA AGG AGG CTA TTG AGA CCG AAC CAC AGC TAA ATT ATT ATG Val Gln Lys Ala Lys Glu Ala Ile Glu Thr Gln Ala Gln Leu Asn Tyr Tyr Asp
4185	TAA TGG GAA AAT GCT CAA TAG GAA TAG AAG GGG TGG ATG TAT TAG GAG CAG TTA Met Gly Lys Ser Ile Gly Ser Lys Gly Val Asp Val Leu Gly Gly Val Ile	4212	ATC CCA ATC GAG GAT TAT ATG CAA AAT TGA GTT TAC TGG GAC CAC ATC AAA TAT Pro Asn Arg Gly Leu Tyr Ala Lys Leu Ser Leu Val Gly Pro His Gln Ile Cys
4239	TAG ATG AAG GAT ATA GAG CAG AAT TAG GAG TGA TTA ATT TAA CAA AAA Asp Glu Gly Tyr Arg Gly Glu Leu Gly Val Ile Met Ile Asn Leu Thr Lys Lys	4293	GTT ATC AAG TGT ATC AAA ACA ACC CAG AAC ACA TTT TAT GGT ATG GTA AGA TAA Tyr Gln Val Tyr Gln Lys Asn Pro Glu His Ile Leu Trp Tyr Gly Lys Ile Asn
4293	AAT CAA TAA CTA TAT TAG AAA ACC AAA TAG CAC AAT TGA TAA TAT TGC CTT Ser Ile Thr Ile Leu Glu Lys Gln Lys Ile Ala Gln Leu Ile Ile Leu Pro Cys	4347	ATA GAC AAA AGA AAA AAG CAG AAA ATA CCT GTG ATA TAC CTC TAA GAG CAT GTT Arg Gln Lys Lys Lys Lys Ala Asn Thr Cys Asp Trp Ile Ala Leu Arg Ala Cys Tyr
4347	GTA GAC ACG AGC GGC TAC AAC AAG CAG AAG TAC AAA TGA ATT CAG AAA GAG GAG Arg His Glu Gly Leu Gln Gln Gly Glu Ile Gln Met Asn Ser Glu Arg Gly Glu	4401	ATA AAA TAA GAG AAG AGT CTA TTA TAA GAA TAG GAA TAG AAG MAC GAG TAT ATG AAA Lys Ile Arg Glu Glu Ser Ile Ile Arg Ile Gly Lys Glu Pro Val Tyr Glu Asn
4401	AAA AAG GAT TCG GAT CAG CAG GGT TTT TTT CAT CAT GGG TAG ATA GAA TTG AAG Lys Gly Phe Gly Ser Ala Val Phe Ser Ser Trp Val Asp Arg Ile Glu Glu	4428	TAC CTC CAT CCA AAG GGT GGT GGT AAT CAA ATC TAA TTA CAT CTC CAT AFC TTA Pro Ala Ser Arg Glu Ala Trp Glu Ser Asn Leu Ile Arg Ser Pro Tyr Leu Lys

Met Ser Asp Glu Asp Trp Glu Val Ser Arg Arg Leu Phe Ala Val Leu Glu
Asp Glu
5319 5346

GGA GGA GTA TAC AGC GCC ATG ATA TCG AGT CTA CCT GAA ATG GAA CAG
Gly Gly Val Tyr Ser Ala Met Leu Tyr Ile Ser Ser Leu Pro Glu Met Glu Glu

GAT AAA TGT AAG AGC TTT AAG AAA AGG CTT TCG GAA AAG GAA ACG AAG GAA
Asp Lys Cys Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Lys Glu Thr Gly Phe
5373 5400

ATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GGA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT
Ile Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Trp Ser Phe His Thr Arg Asp
5427 5454

TAT TAT ATA GGA TAT GTA AGA GAG ATG GTG GTC GGA TCT ACC CTA CCA GAT AGT
Tyr Tyr Ile Gly Tyr Val Arg Glu Met Val Ala Gly Ser Ser Leu Pro Asp Ser
5481 5508

TTA AGA TTG TAT GTT TAT ATA AGC AAT CCA TTG TGG CAT CAA TCA TAC TAC CCT CCT
Leu Arg Leu Tyr Val Tyr Ile Ser Asn Pro Leu Trp His Glu Ser Tyr Arg Pro
5535 5562

GGC CTG ACA AAT TTT AAT ACA GAA TGG CTT GTT CTA AAT ATG TGG ATA AAG ACA
Gly Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Trp Pro Phe Val Asn Met Trp Ile Lys Thr
5589 5616

GGA TTT ATG TGG GAT GAT ATT GAA AGC CAG AAT ATT TGC AAA GGA GGA GAT ATT
Gly Phe Met Trp Asp Asp Ile Glu Ser Glu Asn Ile Cys Lys Gly Gly Glu Ile
5643 5670

TCA CAT GGA TGG GGA CCT GGA ATG GTG GGA ATT GTG ATA AAA GCA TTT AGT TGT
Ser His Gly Trp Gly Pro Gly Met Val Gly Ile Val Ile Lys Ala Phe Ser Cys
5697 5724

GGA GAA AGG AAG ATA AAA ATT CTT CTT ATG ATT ATA AGA GGT GAA ATA GAC
Gly Glu Arg Lys Ile Lys Ile Thr Pro Val Met Ile Ile Arg Gly Glu Ile Asp
5751 5778

CCC ACA GAA TGG TGT GGA GAT TGT TCG AAT TTG ATG TGT CTT AAA TAT TCA CCT
Pro Thr Glu Trp Cys Gly Asp Cys Trp Asn Leu Met Cys Leu Lys Tyr Ser Pro
5805 5832

CCA AAT ACA TTG CAG AGC CTT CTT ATG CTG GCG TGT GGC AAA GAG GCT AAA GAA
Pro Asn Thr Leu Glu Arg Leu Ala Met Leu Ala Cys Gly Lys Glu Ala Lys Glu
5859 5886

TGG ACA GGC TGT TGT AAT CAG CTT TTT GTT TCT TCT CTT TCC ACA CCA CCA GAT
Trp Arg Gly Cys Asn Glu Arg Phe Val Ser Pro Phe Arg Thr Pro Cys Asp
5913 5940

CTA GAG GTC GTC CAG AAG CAG CCA AAA AGG AAT TTA TTG TGG ACG GGA GAA TTA
Leu Glu Val Val Glu Asn Lys Pro Lys Arg Asn Leu Leu Trp Thr Gly Glu Leu
5967 5994

TGA ATG GAA GAA ATA ATC CCA CTG TTT AAT AAG GTT ACA GAA TTA GAT AGA
Met Glu Glu Ile Ile Pro Leu Phe Asn Lys Val Thr Glu Lys Leu Asp Arg
6021 6048

GAA CCA GCT ATT AGA TTA TTT ATG TTT GCT TAT CAG GTA GAC AAG TAC AAG TTT
Glu Pro Ala Ile Arg Leu Phe Ile Leu Ala Tyr Glu Val Asp Arg Tyr Arg Phe
6075 6102

GGG ATG ACT GAC GAA GAT TGG CAG GTA AGT AAG ACG CTC TTT GCA GTT CTC CAA
6129 6156

AAG CAG AGT TCA ATC ATG AAA AAT TTC ATT CAG ACC CAC AAT ATT TAA GGA CCG
Ala Glu Leu Asn His Glu Lys Phe His Ser Asp Pro Glu Tyr Leu Arg Thr Glu
4455 4482

AGT TCA ATC TAC CTA GAA TNG TAC CAG CAG AAG AAA TAA AAA AAT GTC CCC TGT
Phe Asn Leu Pro Arg Ile Val Ala Glu Glu Ile Lys Arg Lys Cys Pro Leu Cys
4509 4536

GCA GAA TTA CAG GCG AAC TAC GGG GAC AAT TAA AGA TTC GGC CTG GAA TAT
Arg Ile Arg Gly Glu Glu Val Gly Gly Glu Leu Lys Ile Arg Pro Gly Ile Trp
4563 4590

GGC AAA TGG ATT GCA CAC AAT TTA ATG GTA AAA TAA TCA TTG TAC CAG TGC ATG
Gln Met Asp Cys Thr His Phe Asn Gly Lys Ile Ile Val Ala Val His Val
4617 4644

TGG AAT CAG GAT TTT TAT GGG CAC GAA TAA TTC CAC AGG AGA CTG CAG ATT GTA
Glu Ser Gly Phe Leu Trp Ala Glu Ile Ile Pro Glu Glu Thr Ala Asp Cys Thr
4671 4698

CAG TCA AAG CTC TTT TAC AAC TTA TAT GTG CTC ATA ATG TTA CAG AAT TAC AAA
Val Lys Ala Leu Leu Glu Leu Ile Cys Ala His Asn Val Thr Glu Leu Glu Thr
4725 4752

CAG ATA ATG GAC CAA ATT TTA AAA ATC AGA AAA TGG AAG GAT TAT TAA ATT ATA
Asp Asn Gly Pro Asn Phe Lys Asn Glu Lys Met Glu Gly Leu Leu Asn Tyr Met
4779 4806

TGG GAA TAA AAC ATA AAT TGG GTA TAC CAG GTA ACC CAC AAT CAC AAG CAT TGG
Gly Ile Lys His Lys Leu Gly Ile Pro Gly Asn Pro Glu Ser Glu Ala Leu Val
4833 4860

TGG AAA ATG CTA ATA ACA CAT TGA AAG TTT GGA TTC AGA AAT TTC TAC CAG AGA
Glu Asn Ala Asn Asn Thr Leu Lys Val Trp Ile Glu Lys Phe Leu Pro Glu Thr
4887 4914

CTA CTT CTC TGG ATA ATG CTT TGG CCC TAG CCC TGC ATT GTC TCA ATT TTA AAC
Thr Ser Leu Asp Asn Ala Leu Ala Leu Ala Leu His Cys Leu Asn Phe Lys Glu
4941 4968

AAA GGG GTA CAG TAC GGA GGA TGG CCC CTT ATG AAT TAT ACA TAC AAC AAG AAT
Arg Gly Arg Leu Gly Arg Met Ala Pro Tyr Glu Leu Tyr Ile Glu Glu Ser
4995 5022

CAT TAA GAA TAC AAG ACT ATT TTT CCG GGA TTC CAC AAA AGT TAA TCA TGC AAT
Leu Arg Ile Glu Asp Tyr Phe Ser Ala Ile Pro Glu Lys Leu Met Met Glu Trp
5049 5076

GCT TGT ATT ACA AAG ATC AAA AAG ATA AAA AAT GGA AGG GAC CAA TGA GAG TGG
Leu Tyr Tyr Lys Asp Glu Lys Asp Lys Lys Trp Lys Gly Pro Met Arg Val Glu
5103 5130

AAT ATT GGC GAC CAG GAT CAG TAT TAT TAA AGG ATG AAG AGG GAA TAT TTC
Met Trp CTA GGA CAC ACA TAA GAG TCC CAG AAC CCT GCA CTC TTC CTC AAG
Val Pro Arg Arg His Ile Arg Arg Val Pro Glu Pro Cys Thr Leu Pro Glu Gly
5157 5184

TTG TAC CTA GGA CAC ACA TAA GAG TCC CAG AAC CCT GCA CTC TTC CTC AAG
Val Pro Arg Arg His Ile Arg Arg Val Pro Glu Pro Cys Thr Leu Pro Glu Gly
5211 5238

GGG ATG ACT GAC GAA GAT TGG CAG GTA AGT AAG ACG CTC TTT GCA GTT CTC CAA
6245 6272

ATT ACA ATT TTA CAA TTA TTA CTT TGG AGA GAT AGA TTT MAG TCA ATT ATT TCT
 Ile Arg Ile Leu Gln Leu Leu Tsp Arg Asp Arg Phe Lys Ser Ile Asn Ser
 6193
 AAA TAT TGT TTA TGC TGC CCG TGC AGG TCT GCT TAT TGG CCG TTG CAA TCT
 Lys Tyr Cys Leu Tsp Leu Cys Lys Ser Ala Tyr Trp Arg Leu Gln Ser
 Met Leu Ala Val Leu Leu Gln Val Cys Leu Leu Ala Leu Ala Ile Tyr
 6237
 ACA TTA TCC ATA ATT ACT GGC TAT AAA TAT TTC TTT TAA TAT TTC ATC TGC AGA
 Thr Leu Ser Ile Asn Thr Ala
 Ile Ile His Lys Tyr Cys Leu Gln Ile Phe Leu Leu Ile Phe His Leu Gln Ile
 6318
 TAT AAA CAT GGC AGA GGG AGT TTT TAC TCA TAA TCA ACA ATG GAT AGC ACC AGA
 Met Ala Gln Gly Gly Phe Thr His Asn Gln Trp Ile Gly Pro Gln
 Ser
 6343
 GGA AGC TGA AGA ATT GTT GGA TTT GGA TAT AGC TGT ACA ATT GAA TGA AGA AGC
 Gln Ala Gln Gln Leu Leu Asp Phe Asp Ile Ala Val Gln Met Asn Gln Gly Gly
 6399
 TCC ATT AAA CCC AGC AGT AAA CCC ATT TAG GGT ACC AGC CAT TAC TTC ACA AGA
 Pro Leu Asn Pro Gly Val Asn Pro Phe Arg Val Pro Gly Ile Thr Ser Gln Gln
 6453
 AAA GGA TGA TTA TTG TAA GAT CTT ACA AAC AAA ACT ACA AGA ATT AAA GAA TGA
 Lys Asp Asp Tyr Cys Lys Ile Leu Gln Thr Lys Leu Gln Leu Lys Asn Gln
 6534
 AGT CAA AGA GGT AAA ATT TGA AGA AGC AAA TGC AGG TAA GTT TAG AGC GGC AGC
 Val Lys Gln Val Lys Ile Gln Gly Asn Ala Gly Phe Arg Arg Ala Arg
 6561
 ATA TTT AGC ATA TGA TGA AAA TGT GCT ATC CAT AGT CTA TTT GCT CAT AGC
 Tyr Leu Arg Tyr Ser Asp Gln Asn Val Leu Ser Ile Val Tyr Leu Leu Ile Gly
 6613
 ATA TCT AAG ATA TTT AAT AGA TCA TAG GAG TTT AGG ATC TTT GAG ACA TGA TAT
 Tyr Leu Arg Tyr Leu Ile Asp His Arg Ser Leu Gly Ser Leu Arg His Asp Ile
 6696
 ACA CAT AGA AAC ACC TCA AGA GGA ACA TTA CAA TAA TAG TCA AAA GGG TAC CAC
 Asp Ile Gln Thr Pro Gln Gln Gln His Tyr Asn Asn Ser Gln Lys Gly Thr Thr
 6723
 ATT AAA TAT AAA ATA TGG GAG AGC ATG TTG TAT TAG CAC ATT TAT TAT GTA TTT
 Leu Asn Ile Lys Tyr Arg Arg Cys Cys Ile Ser Thr Phe Ile Met Tyr Leu
 6777
 AAT CTT TTT TGC AGG AGT AGC CAT CTC GCT CGG AGC TAG GGC GCA AGT AGT GTG
 Ile Leu Phe Ala Gly Val Gly Ile Trp Leu Gly Ala Arg Ala Gln Val Val Trp
 6831
 GAG ACT TCC CCC TTT AGT TCC AGT AGA TGA TAC AGA AAT AAT ATT TTG GGA
 Arg Leu Pro Leu Val Val Pro Val Asp Thr Gln Ile Phe Trp Asp
 6885
 TTG TTG GGC ACC AGA GGA ACC GGT TTG TCA AGA TTT CTT GGC AAC AAT GAT ATA
 Cys Trp Ala Pro Gln Gln Pro Ala Cys Gln Asp Phe Leu Gly Thr Met Ile Tyr
 6939
 TCT AAA AGC AAA TGT CAA TAT AAT ACA AGA AGC ACC TAC ATT GGC AAA TTG
 Leu Lys Ala Asn Ile Ser Ile Gln Gln Gly Pro Thr Leu Gly Asn Trp

GGC AAG ACA AAT TTG CTC CAC ATT ATT TAA AAA GGC TAC AAG ACA ATG TAG AAG
 Ala Arg Gln Ile Trp Ser Thr Leu Phe Lys Lys Ala Thr Arg Gln Cys Arg Arg
 7074
 GGG AAG AAT CTG GAG GAG ATG GAA TGA GAC TAT AAC AGC ACC ATT AGG ATG CCG
 Gly Arg Ile Trp Arg Arg Trp Asn Gln Thr Ile Thr Gly Pro Leu Gly Cys Ala
 7101
 AAA CAA CAC CTG TTA TAT TAT CTC GGT AGT GGT ACC TGA TTA TCA ATG TTA TGT
 Asn Asn Thr Cys Tyr Asn Ile Ser Val Val Pro Asp Tyr Gln Cys Tyr Val
 7155
 AGA CAG AGT AGA TAC ATG GTT GCA AGG GAA AGT TAA TAT TTC ACT ATG TTT GAC
 Asp Arg Val Asp Thr Trp Leu Gln Gly Lys Val Asn Ile Ser Leu Cys Leu Thr
 7208
 ACG AGC AAA GAT GCT ATA TAA TAA AGA AAC AGC ACA ATT AAG TTA TTG TAC AGA
 Gly Gly Lys Met Leu Tyr Asn Lys Gln Thr Arg Gln Leu Ser Tyr Cys Thr Asp
 7263
 TCC ACT GCA AAT TCC ATT GAT TAA TTA TAC ATT TGG GGC TAA TCA AAC TTG TAT
 Pro Leu Gln Ile Pro Leu Ile Asn Tyr Thr Phe Gly Pro Asn Gln Thr Cys Met
 7317
 GTG GAA CAC ATC TTT GAT CAA AGA TTC TGA GAT ACC AAA ATG TGG ATG GTG GAA
 Trp Asn Thr Ser Leu Ile Lys Asp Ser Gln Ile Pro Lys Cys Gly Trp Trp Asn
 7371
 CCA AGT ACC TTA TTA CCA TAC TTG TAA ATG GGA AGC AAA ACC TAA TGT GAT ATT TCA
 Gln Val Ala Tyr Tyr Asp Thr Cys Lys Trp Gln Ala Asn Val Thr Phe Gln
 7425
 GTG TCA CAG ACA AAG TCA ATC AGC ATC ATG GAT TAG AAC AAT CTC CTC ATG
 Cys His Arg Thr Gln Ser Gln Ser Gly Ser Trp Ile Arg Thr Ile Ser Ser Trp
 7479
 GAA ACA AAG AAA TAG ATG GGA AGC GGC AGA CTT TCA AAG TGA GAA AGT AAA
 Lys Gln Arg Asn Arg Trp Gln Trp Arg Pro Asp Phe Gln Ser Gln Lys Val Lys
 7533
 AAT ATC ATT ACA ATG TAA TAG TAC TAA AAA CTT AAC GTT TGC AAT GAG AAG TTC
 Ile Ser Leu Gln Cys Asn Ser Thr Lys Asn Leu Thr Phe Ala Met Arg Ser Ser
 7587
 AAG TGA TTA TTA TGA TGT ACA AGC AGC ATG GAT AGA ATT TGG ATC TCA TAG GAA
 Ser Asp Tyr Tyr Asp Val Gln Gly Ala Trp Ile Gln Phe Gly Cys His Arg Asn
 7641
 TAA ATC AAA AAG GCA CTC GCA GGC AAG ATT TAC AAT AAG ATG TAA ATG GAA TGA
 Lys Ser Lys Arg His Ser Gln Ala Arg Phe Arg Ile Arg Cys Lys Trp Asn Gln
 7695
 AGC AAA TAA TAT CTC ACT TAT TGA TAC CTC TGG GAC AAA TCC AAA TGT CAC AGG
 Gly Asn Asn Ile Ser Leu Ile Asp Thr Cys Gly Thr Asn Pro Asn Val Thr Gly
 7748
 AGC CAA CCC GGT AGA TTG TAC TAT GAA GGC AAA CAC TAT GTA CAA TTG CTC TTT
 Ala Asn Pro Val Asp Cys Thr Met Lys Ala Asn Thr Met Tyr Asn Cys Ser Leu
 7803
 ACA ACA TAG TTT TAC TAT GAA AAT AGA GGA TCT TAT TGT ACA TTT TAA TAT GAC
 Gln Asp Ser Phe Thr Met Lys Ile Gln Asp Leu Ile Val His Phe Asn Met Thr

7857
AAA AGC TGT GGA ATT GTA TAA TAT TGC TGG AAA TTG GTC TGC CAC ATC GGA TTT
Lys Ala Val Glu Leu Tyr Asn Ile Ala Gly Asn Trp Ser Cys Thr Ser Asp Leu

7884
ACC AAA AGG AGG ATA TAT GAA CTG TAA TTG TAC AAA TGG GAC TGA TAA TAG
Pro Lys Gly Trp Gly Tyr Met Asn Cys Asn Cys Thr Asn Gly Thr Asp Asn Ser

7938
TGA AAC AAT GGC ATG CCC TAA GAA CCA GGG TAT TTT ANG AAA TTG GTA CAA
Glu Thr Lys Met Ala Cys Pro Lys Asn Gln Gly Ile Leu Arg Asn Trp Tyr Asn

7992
CCC AGT CGC AGG GTT AAG ACA GGC GTT AAT AAA ATA TCA AGT AGT AAA ACA GCC
Pro Val Ala Gly Leu Arg Gln Ala Leu Ile Lys Tyr Gln Val Val Lys Gln Pro

8046
AGA GTA TTT GAT AGT GGC GGA AGA AGT TAT GCA GTA TAA ATT CAA ACA AAA GAG
Glu Tyr Leu Ile Val Pro Glu Glu Val Met Gln Tyr Lys Phe Lys Gln Lys Arg

8100
AGC AGC TAT TCA TAT GTT AGC TCT TGC GNC AGT GTT ATC TAT GGC TGG AGC
Ala Ala Ile His Ile Met Leu Ala Leu Ala Thr Val Leu Ser Met Ala Gly Ala

8127
AGG AAC GGG TGC CAG TGC TAT TGG AAT GGT GNC TCA ATA TCA TCA AGT TTT GGC
Gly Thr Gly Ala Thr Ala Ile Gly Met Val Thr Gln Tyr His Gln Val Leu Ala

8181
TAC TCA TCA ACA AGC ATT GGA AAA AAT AAC TGA GGC AGT GAA AAT AAA TAA TTT
The His Gln Gln Ala Leu Glu Lys Ile The Glu Ala Leu Lys Ile Asn Asn Leu

8235
AAG GCT AAT TAC CTT AGA GCA CCA AGT ATT AGT GAT AGG ATT AAG AGT AGA GGC
Arg Leu Ile Thr Leu Glu His Gln Val Leu Val Ile Gly Leu Arg Val Glu Ala

8313
TAT AGA AAA ATT CTT ATA TAC AGC TTT TGC TAT GCA AGA ATT AGG ATG CAA TCA
Ile Glu Lys Phe Leu Lys Thr Ala Phe Ala Met Gln Gln Glu Leu Gly Cys Asn Gln

8370
AAA TCA ATT CTT TTG TAA AAT TCC TCC CAG CCT ATG GAG TAT GTA TAA CAT GAC
Asn Gln Phe Phe Cys Lys Ile Pro Pro Ser Leu Trp Ser Met Tyr Asn Met Thr

8424
TTT GAA TCA AAC CAT CTG GAA TCG AAA TAT CTC ATT GGG GAA TTG GTA TAA
Leu Asn Gln Thr Ile Trp Asn His Gly Asn Ile Ser Leu Gly Asn Trp Tyr Asn

8478
TCA AAC AAG AGA TTT GCA AAA TAA ATT TTA TGA GAT AAT AAT GGA TAT AGA ACA
Gln Thr Arg Asp Leu Gln Asn Lys Phe Tyr Glu Ile Ile Met Asp Ile Glu Gln

8532
AAA TAA TGT ACN AGG GAA AAC TGG AAT ACN ACA ATT ACN GAA ATG GGA AAA TTG
Asn Asn Val Gln Gly Lys Thr Gly Ile Gln Gln Leu Lys Trp Glu Asn Trp

8559
GGT GGG ATG GAT AGG CAA AAT CCC TCA ATA TTT AAA AGG ACT TCT TGG TAG TGT
Val Gly Trp Ile Gly Lys Ile Pro Gln Tyr Lys Leu Lys Gly Leu Leu Gly Ser Val

8613
GTT GGG AAT AGG TCT AGG AAT CTT ACT ACT TAT ATG CTT GGC TAC ATT AGT
8667
8694

Leu Gly Ile Gly Leu Gly Ile Leu Leu Leu Leu Ile Cys Leu Pro Thr Leu Val

8721
AGA TTG TAT AAG AAA CTG TAC GAA TAA AAT ACT GGG ATA TAG AGT TAT TGC AAT
Asp Cys Ile Arg Asn Cys Thr Asn Lys Ile Leu Gly Tyr Thr Val Ile Ala Met

8775
GCC TGA AAT AGA TGA AGA AGT ACA CCT ATC AGT GGA ATT GAG GAG AAA TGG
Pro Glu Ile Asp Asp Glu Glu Val His Leu Ser Val Glu Leu Arg Arg Asn Gly

8829
CAG GCA ATG TGG CAT ATC TGA AAA AGA GGA AGA ATG ATG AAG CAT CTC CGG ACT
Arg Gln Cys Gly Ile Ser Glu Lys Glu Glu

8856
Gly Asn Val Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Arg Asn Asp Glu Ala Ser Pro Asp Cys

8910
GTA AAA TAC AGG AGA CAT GCT GAG CTG ATT TCT TCC CTT TGA GGA GGA TGT GTC
Lys Ile Gln Glu Arg Cys

8937
ATA TGA ATC TTT AAA TCA AAA TAA CAT TAA AAT CTG TAT TGC AAG GCA AAC
Met Asn Pro Phe Gln Ile Lys Ile Thr Leu Lys Ser Val Leu Gln Gly Lys Arg

8991
GTA AGA GAC AAC GAA GAA AGA AGA AGC CCT TCA AAC ATA TGA TGG CAA
Lys Arg Gln Arg Arg Arg Lys Lys Lys Ala Phe Lys His Met Met Ala Asn

9043
ATC TAG AGA ACC GCT TTA AGA TGC TGT TTG GCA CAC COT CAA CCA CAG AGC AAA
Leu Glu Asn Arg Phe Lys Met Leu Phe Gly Thr Pro Ser Thr Thr Asp Glu Thr

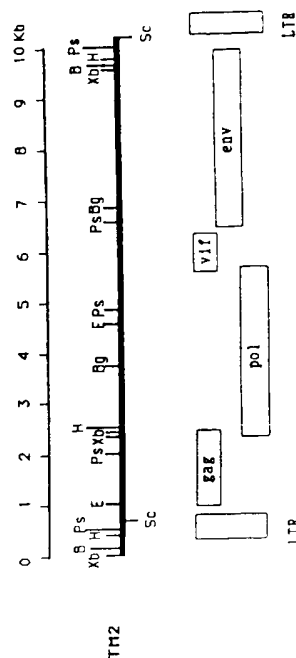
9099
CAG AAG AAA AAT CAT CTG CAA AAG AAA AAG GGG TGG ACT GGG AAG ATT ATT GAG
Glu Glu Lys Thr Ser Ala Lys Glu Lys Arg Val Asp Trp Glu Asn Tyr Trp Asp

9126
ATC CTG AAG AAA TAG AGA TGA TGG ACT GAG GGC GCA CAT AAA CAA GTC
Pro Glu Glu Ile Glu Lys Met Leu Met Asp

9153
ACA CAT GAA AAA CAG CTG AAT ATG AGT CAG AGT TAA ATG CTA GCA GCT GCT TAA
9207
9234
CCG CAA AAC CAC ATC CTA TGT AAA GCT TGC CGA TGA CGT GTA TCT TGC TCC ATT
9288
GTA AGA GTA TAT AAC CAG TGT TTT TTA AAG CTT CCA GG

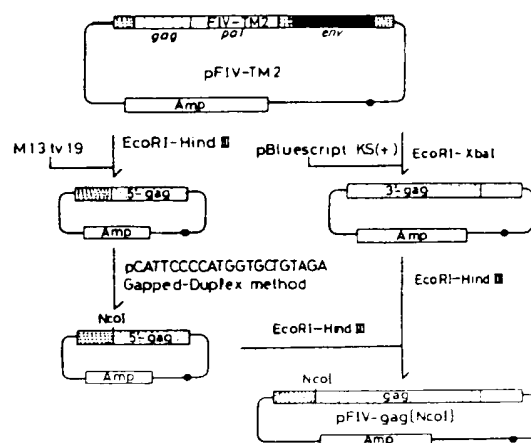
図面の添付(内容に変更なし)

第 2 図

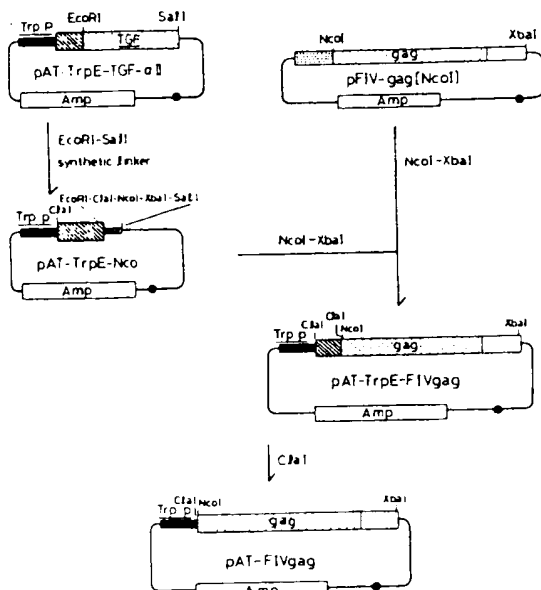


図面の添付(内容に変更なし)

第 3 図

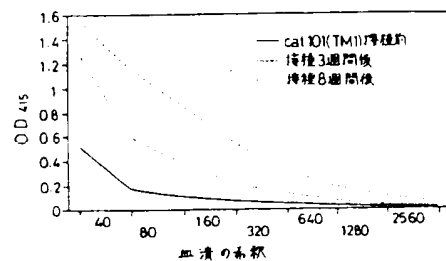


第 4 図

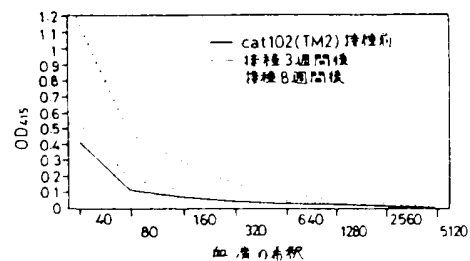


第 5 図

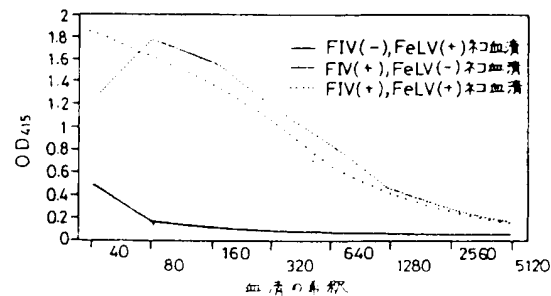
(A)



(B)



第 6 図



第 1 頁の続き

⑤Int. Cl. ⁵			識別記号	庁内整理番号	
C	12	N	1/21	7236-4B	
			15/70		
C	12	P	21/02	C H	8214-4B
G	01	N	33/569		9015-2J
//	A	61	K	39/21	8829-4C
(C	12	P	21/02	
	C	12	R	1:19)	
	A	61	K	37/02	8317-4C

⑦発明者 斎藤 美保 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡 1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

⑦発明者 伊達 朋子 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡 1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

特開平4-126085 (34)

手続補正書 (方式)

平成2年11月19日

特許庁長官 補 松 敏 郎

1. 事件の表示 平成2年特許第206218号

2. 発明の名称 ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに
相補性を示すDNA

3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人

名 称 東電株式会社

4. 代 理 人 東京都新宿区新宿 1丁目 1番14号 山田ビル
(郵便番号 160) 電話 (03) 354-8623
(6200) 井 野 士 川 口 敏 郎
(ほか4名)

5. 補正指令の日付 平成2年10月30日

6. 補正により増加する請求項の数 なし

7. 補正の対象 明細書及び図面

8. 補正の内容

(1) 明細書中、鮮明に写された第1頁～第16頁を別紙の通り補充する。(内容に変更なし)

(2) 図面中、十分に濃厚な黒色で鮮明に描いた(通称第2図及び第3図を別紙の通り補充する。(内容に変更なし)

た び 査 (印)